

BERNARDO DE SOUZA

**A atividade de fotoclivagem do DNA de quatro novos
complexos de cobre(II) sob luz UV e vermelha:
correlações teórico/experimentais sobre a formação das
espécies ativas**


Florianópolis

2010

BERNARDO DE SOUZA

**A atividade de fotoclivagem do DNA de quatro novos
complexos de cobre(II) sob luz UV e vermelha:
correlações teórico/experimentais sobre a formação das
espécies ativas**

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Ademir Neves
Orientador - UFSC



Prof. Dr. Adailton João Bortoluzzi
UFSC



Prof. Dr. Fábio da Silva Miranda
UFF



Prof. Dr. José Roberto Bertolino
UFSC

Florianópolis, 8 de Março de 2010

À minha querida mãe Maria Salete da Silva. Eu nunca teria feito nada sem a sua força extraordinária.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela luz, pelas cores e por toda a alegria de poder compreender o mundo ao meu redor cada vez mais.

À minha família, meus pais e minha irmã que de formas diferentes me dão todo o suporte pra continuar em frente. Também à minha tia Anadete pela ajuda e cuidado aqui em Florianópolis.

Ao professor Ademir, meu orientador, que realmente fez jus ao título e que me ajudou a percorrer esse caminho. Muito obrigado pelo bom exemplo.

Ao professor Hernán pela colaboração e disposição em tentar coisas novas. À Franciele Fischer e ao Tiago Bortolotto e por toda a ajuda com os experimentos de DNA e todas as boas ideias.

Ao professor William Rocha, que me recebeu muito bem em BH e deu suporte à parte teórica. Um agradecimento muito especial à Dalva, ao Júlio e a Roberta da UFMG pela paciência de me aguentar perguntando tanta coisa.

A todo o pessoal do LABINC pelo clima indispensável. Foi muito bom ter vocês por perto todo esse tempo. O seu companheirismo e amizade tiveram um papel fundamental nas horas mais complicadas.

A todo o pessoal da OTP e aos meu grande amigos aqui de Florianópolis. Vocês já fazem muita falta e são muito MUITO importantes pra mim. Não tem nem como eu agradecer o suficiente pela nossa amizade.

Ao Departamento de Química da UFSC pela estrutura aos professores que colaboraram com a minha formação.

Ao CNPq pela bolsa concedido por estes dois anos e a CAPES pela ajuda em viagens. Obrigado pelo suporte.

“e disse Deus: haja luz! E houve luz.”

Gênesis 1.3

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AMP	ácido mercapto propanóico
BP (unidade)	pares de base
DFT	teoria do funcional da densidade
DMSO	dimetil sulfóxido
DNA-CT	DNA Calf Thymus
dpq	dipirido[3,2-d:2',3'-f]quinoxalina
DTT	ditiotreitól
EDTA	ácido etilenodiamino tetracético
ENH	eletrodo normal de hidrogênio
FT-IR	infravermelho com transformada de fourier
HL ₁	(3,5-di- <i>terc</i> -butil-2-hidroxibenzil)(2-piridilmetil)imina
HL ₂	(2-hidroxibenzil)(2-piridilmetil)imina
HOMO	orbital desocupado de energia mais alta
IV	espectroscopia no infravermelho
L	forma linear do DNA
LUMO	orbital desocupado de energia mais baixa
MeOH	Metanol
n	estiramento da ligação
NC	forma circular do DNA
RMN	ressonância magnética nuclear
SC	forma superenovelada do DNA
TBAPF ₆	hexafluorofosfato de tetrabutílamônio
TFD	Terapia Fotodinâmica
TRIS-HCl	tris(hidroximetil)aminometano com pH regulado por HCl
UV	Ultravioleta

RESUMO

Neste trabalho foram sintetizados quatro novos complexos mononucleares de cobre(II), $[\text{Cu}(\text{L}_1)(\text{dpq})]\text{ClO}_4$ (**2**), $[\text{Cu}(\text{L}_1)(\text{phen})]\text{ClO}_4$ (**3**), $[\text{Cu}(\text{L}_2)(\text{dpq})]\text{ClO}_4$ (**4**), $[\text{Cu}(\text{L}_1)(\text{OAc})]$ (**5**), e complexo conhecido $[\text{Cu}(\text{dpq})_2(\text{H}_2\text{O})]\text{ClO}_4$ (**1**), sendo dpq = dipirido[3,2-d:2',3'-h]quinoxalina, L_1 = (3,5-di-*terc*-butil-2-hidroxibenzil)(2-piridilmetil)imina e L_2 = (2-hidroxibenzil)(2-piridilmetil)-imina). Os complexos foram caracterizados por vários métodos e a estrutura do complexo $[\text{Cu}(\text{L}_1)(\text{dpq})]\text{ClO}_4$ (**2**) foi resolvida por cristalografia de raios-X. A estrutura revelou um centro mononuclear de cobre(II) coordenado ao dpq e ao ligante L_1 numa geometria de pirâmide de base quadrada distorcida.

A interação dos complexos com o DNA foi avaliada por titulação com o DNA Calf Thymus através de uma técnica espectroscópica e as constantes de interação K_b foram obtidas. A técnica revelou que nenhum complexo intercala no DNA, mas todos interagem suficientemente bem. A atividade de nuclease e fotonuclease dos complexos também foi avaliada através da clivagem de DNA plasmidial. Os complexos apresentaram uma boa atividade tanto quando irradiados com luz UV como quando sob luz vermelha. Alguns estudos mecanísticos foram realizados para elucidar os mecanismos de clivagem.

A partir da estrutura de raios-X e das estruturas propostas para os complexos **1-5**, calculou-se a estrutura eletrônica nos estado fundamental e “triplete” para cada um. Com a correlação de propriedades teóricas com experimentais, propôs novas relações entre a atividade de fotonuclease dos complexos e as propriedades específicas destes estados eletrônicos.

ABSTRACT

In this study, four new mononuclear complexes of Cu(II) were synthesized: $[\text{Cu}(\text{L}_1)(\text{dpq})]\text{ClO}_4$ (**2**), $[\text{Cu}(\text{L}_1)(\text{phen})]\text{ClO}_4$ (**3**), $[\text{Cu}(\text{L}_2)(\text{dpq})]\text{ClO}_4$ (**4**), $[\text{Cu}(\text{L}_1)(\text{OAc})]$ (**5**), and the known complex $[\text{Cu}(\text{dpq})_2(\text{H}_2\text{O})]\text{ClO}_4$ (**1**), where $\text{dpq} = \text{dipirido}[3,2\text{-d}:2',3'\text{-h}]\text{quinoxalina}$, $\text{L}_1 = (3,5\text{-di-}i\text{terc-butyl-2-hidroxibenzil})(2\text{-piridilmetil})\text{imina}$ e $\text{L}_2 = (2\text{-hidroxibenzil})(2\text{-piridilmetil})\text{-imina}$. The complexes were characterized by various methods and the X-ray structure of $[\text{Cu}(\text{L}_1)(\text{dpq})]\text{ClO}_4$ (**2**) was solved. The structure revealed a mononuclear copper(II) center coordinated to the dpq and L_1 ligands in distorted square pyramid arrangement.

The interaction of these complexes with DNA was evaluated by titration with Calf Thymus DNA through a spectroscopic technique and the binding constants K_b were obtained. The technique revealed that no complex intercalated DNA, but they did interacted enough. The activity of nuclease and photonuclease was also measured, through plasmidial DNA cleavage. The complexes presented good activity under both ultraviolet and red light. Some mechanistic studies were performed in order to elucidate the specific paths of cleavage.

From the X-ray structure and the proposed structures to complexes **1-5**, the electronic structure of the fundamental and "triplet" states were calculated. By correlating theoretical properties with experimental data, new relations were proposed between the experimental DNA cleavage activity and properties of the electronic states.

Sumário

AGRADECIMENTOS		4
“E DISSE DEUS: HAJA LUZ! E HOVE LUZ.”		5
GÊNESIS 1.3		5
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS		6
ÍNDICE DE FIGURAS		11
1	INTRODUÇÃO	16
	1.1 CÂNCER – O PROBLEMA	16
	1.2 TERAPIA FOTODINÂMICA (TFD)	17
	1.3 MECANISMO DE AÇÃO	18
	1.4 UM BREVE HISTÓRICO DOS AGENTES TERAPÊUTICOS	20
	1.5 COMPLEXOS METÁLICOS NA TFD	23
	1.6 COMPLEXOS DE COBRE	24
2	OBJETIVOS.....	30
3	EXPERIMENTAL	31
	3.1 MATERIAIS, MÉTODOS E INSTRUMENTAÇÃO	31
	3.2 SÍNTESE DOS COMPLEXOS	34
4	CARACTERIZAÇÃO	41
	4.1 PROPRIEDADES DOS COMPLEXOS.....	41
	4.2 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO	42
	4.3 ESTRUTURA DO COMPLEXO [Cu(L ₁)(DPQ)](ClO ₄) (2)	42
	4.4 ESPECTROSCOPIA ELETRÔNICA	44
	4.5 ELETROQUÍMICA	46
5	EXPERIMENTOS COM DNA.....	48
	5.1 INTERAÇÃO DOS COMPLEXOS COM DNA (K _B).....	48
	5.2 ATIVIDADES DE NUCLEASE E FOTONUCLEASE	50
	5.3 ESTUDOS MECANÍSTICOS DAS REAÇÕES DE FOTOCIVAGEM.....	54
6	CÁLCULOS E CORRELAÇÕES	60
	6.1 CÁLCULOS DAS ESTRUTURAS DOS COMPLEXOS	61

	6.2 CORRELAÇÕES DA ESTRUTURA ELETRÔNICA DO ESTADO QUADRUPELO COM ATIVIDADE NO UV	65
	6.3 CORRELAÇÕES DA ESTRUTURA ELETRÔNICA DO ESTADO FUNDAMENTAL COM ATIVIDADE NA LUZ VISÍVEL	67
7	CONCLUSÕES	70
8	BIBLIOGRAFIA	71
	ANEXO I – TABELAS COM COORDENADAS DAS ESTRUTURAS OTIMIZADAS	79
	ANEXO II – DADOS CRISTALOGRAFICOS DO COMPLEXO 2.....	87
	ANEXO III – ARTIGO ACEITO PARA PUBLICAÇÃO	97

Índice de Figuras

Figura 1. Esquema de funcionamento da terapia fotodinâmica.	18
Figura 2. Processos físico-químicos relacionados à TFD.	18
Figura 3. Produtos de oxidação de biomoléculas com oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$).	19
Figura 4. Diagrama de Jablonski para os mecanismos fotoquímicos relacionados à TFD.	20
Figura 5. Representação da estrutura do agente fototerapêutico Photofrin [®] na forma éter.	21
Figura 6. Esqueletos de alguns fotossensibilizadores polipirrólicos: a) porfirina, b) clorina, c) bacterioclorina, d) ftalocianina e e) taxapirina. Abaixo, o ácido 5-amino-4-oxopentanóico, precursor do agente Levulan [®]	22
Figura 7. Exemplos de complexos capazes de quebrar o DNA na presença de luz.	24
Figura 8. Alguns complexos mononucleares de cobre(II) com atividade no DNA.	26
Figura 9. Esquema da redução dos complexos de cobre no escuro; complexos de vanádio(IV) estudados recentemente; e complexo de ferro(II), representando a	28
Figura 10. Estruturas dos complexos 1-5 estudados.	29
Figura 11. Espectro no infravermelho do complexo $[\text{Cu}(\text{dpq})_2(\text{H}_2\text{O})](\text{ClO}_4)_2$ (1) em KBr.	36
Figura 12. Espectro no infravermelho do complexo $[\text{Cu}(\text{L}_1)(\text{dpq})](\text{ClO}_4)$ em KBr.	37
Figura 13. Espectro no infravermelho do complexo $[\text{Cu}(\text{L}_1)(\text{phen})](\text{ClO}_4)$ em KBr.	38
Figura 14. Espectro no infravermelho do complexo $[\text{Cu}(\text{L}_2)(\text{dpq})](\text{ClO}_4)$ em KBr.	39
Figura 15. Espectro no infravermelho do complexo $[\text{Cu}(\text{L}_1)(\text{OAc})](\text{ClO}_4)$ em KBr.	40

Figura 16. Diagrama ORTEP do complexo $[\text{Cu}(\text{L}_1)(\text{dpq})](\text{ClO}_4)$ (2) mostrando o esquema de numeração dos átomos e elipsóides térmicos com 50% de probabilidade.....	43
Figura 17. Espectros eletrônicos dos complexos 1-5 em CH_3CN	45
Figura 18. Gráficos de voltametria cíclica para os complexos 2-5 em CH_3CN $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em TBAPF_6 . Os potenciais estão representados versus ENH. [complexos] = $5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$	47
Figura 19. Voltamograma cíclico do complexo 2 em CH_3CN com adição de AMP (a). Espectro eletrônico do complexo 2 com adição de AMP (b), [complexo] = 1×10^{-4}	47
Figura 20. Titulação do complexo $[\text{Cu}(\text{L}_2)(\text{dpq})](\text{ClO}_4)$ (4) em tampão Tris-HCl 50 mmol L^{-1} (pH 7,2), 50 mmol L^{-1} NaCl com incremento de DNA-CT. O quadro menor mostra o ajuste de mínimos quadrados de $[\text{DNA}] / (\epsilon_a - \epsilon_f)$..	49
Figura 21. Clivagem do DNA plasmidial ($25 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ pb) por 1-5 em tampão Tris-HCl (pH 7,2, NaCl $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$) em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (25/75 v/v) no escuro por 15 min a 37°C . [complexos] = $6,25 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$	51
Figura 22. Clivagem do DNA plasmidial ($25 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ pb) por 1-5 em tampão Tris-HCl (pH 7,2, NaCl $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$) em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (25/75 v/v) no escuro com $500 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de AMP por 15 min a 37°C . [complexos] = $6,25 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$	51
Figura 23. Fotoclivagem do DNA plasmidial por 1-5 em tampão Tris-HCl (pH 7,2, NaCl $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$) em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (25/75 v/v) a 37°C após irradiação com luz UV (12 W, 365 nm) por 15 min. [complexos 1,2,4 e 5] = $12,5 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, [complexo 3] = $250 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. *Não pode ser observado mais nenhuma forma do DNA sob estas condições.	52
Figura 24. Fotoclivagem do DNA plasmidial por 1-5 em tampão Tris-HCl (pH 7,2, NaCl $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$) em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (25/75 v/v) a 50°C após irradiação com luz vermelha (3 mW, 635 nm) por 20 min. [complexos] = $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$	53
Figura 25. Esquema dos mecanismos de fotoclivagem para os complexos 1-5	55
Figura 26. Fotoclivagem do DNA plasmidial por 2 em tampão Tris-HCl (pH 7,2, NaCl $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$) em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (25/75 v/v) a 37°C após irradiação	

com luz UV (12 W, 365 nm) por 15 min com e sem aditivos. [complexo] = 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$	56
Figura 27. Fotoclivagem do DNA plasmidial por 2 em tampão Tris-HCl (pH 7,2, NaCl 50 μmolL^{-1}) em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (25/75 v/v) a 50°C após irradiação com luz vermelha (3 mW, 635 nm) por 20 min com e sem aditivos. [complexo] = 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$	56
Figura 28. Fotoclivagem do DNA plasmidial por 3 em tampão Tris-HCl (pH 7,2, NaCl 50 μmolL^{-1}) em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (25/75 v/v) a 37°C após irradiação com luz UV (12 W, 365 nm) por 15 min com e sem aditivos. [complexo] = 250 $\mu\text{mol L}^{-1}$	57
Figura 29. Fotoclivagem do DNA plasmidial por 3 em tampão Tris-HCl (pH 7,2, NaCl 50 μmolL^{-1}) em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (25/75 v/v) a 50°C após irradiação com luz vermelha (3 mW, 635 nm) por 20 min com e sem aditivos. [complexo] = 250 $\mu\text{mol L}^{-1}$	57
Figura 30. Fotoclivagem do DNA plasmidial por 4 em tampão Tris-HCl (pH 7,2, NaCl 50 μmolL^{-1}) em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (25/75 v/v) a 37°C após irradiação com luz UV (12 W, 365 nm) por 15 min com e sem aditivos. [complexo] = 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$	58
Figura 31. Fotoclivagem do DNA plasmidial por 4 em tampão Tris-HCl (pH 7,2, NaCl 50 μmolL^{-1}) em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (25/75 v/v) a 50°C após irradiação com luz vermelha (3 mW, 635 nm) por 20 min com e sem aditivos. [complexo] = 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$	58
Figura 32. Atividade de fotoclivagem por irradiação de luz UV (365 nm) a 37°C em tampão Tris-HCl (pH 7,2, NaCl 50 μmolL^{-1}) em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (25/75 v/v), na presença e ausência de oxigênio (atmosfera de argônio, Ar). [complexos 2 e 4] = 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$, [complexo 3] = 250 $\mu\text{mol L}^{-1}$. [FeEDTA] = 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$, [DTT] = 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$	59
Figura 33. Figuras geradas a partir dos dados das estruturas otimizadas dos complexos 1-5	63
Figura 34. Infravermelhos teóricos (vermelho) e experimentais (preto) dos complexos 1-5 , calculados a partir das estruturas otimizadas. A banda referente ao perclorato não aparece nos teóricos por este não ter sido considerado parte da estrutura do complexo durante o cálculo.	64

Figura 35. Diagrama de orbitais moleculares para os elétrons desemparelhados do estado excitado quadruplete do complexo 2 e gráfico da diferença α HOMO - β LUMO <i>versus</i> atividade no DNA para 1-5 . A atividade foi medida sob as mesmas condições citadas anteriormente, mas com [complexo] = 5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 10 minutos de exposição apenas, a fim de obter-se uma atividade mensurável do complexo 1 . $R_{\text{fit}} = 0,939$	66
Figura 36. Gráfico do potencial de redução do cobre(II) (E_c) <i>versus</i> atividade no DNA para 2-5 e do HOMO calculado <i>versus</i> a atividade no DNA dos mesmo complexos. A atividade foi medida nas mesmas condições reportadas anteriormente, com [complexo] = 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 20 minutos de exposição. $R_{\text{fit}} = 0,999$ para E e $R_{\text{fit}} = 0,824$ para o HOMO calculado.....	67
Figura 37. ORTEP do cátion complexo $[\text{Cu}(\text{L}_1)(\text{dpq})]^+$ (2),.....	87

Índice de Tabelas

Tabela 1. Distâncias de ligação (Å) e ângulos (°) selecionados para o complexo $[\text{Cu}(\text{L}_1)(\text{dpq})](\text{ClO}_4)$ (2) com erros entre parêntesis.	43
Tabela 2. Constantes de interação calculadas a partir das titulações com DNA-CT para os complexos 1-5.	49
Tabela 3. Comparação entre distâncias e ângulos obtidos por cristalografia de raios-X com as calculadas pelo método teórico.	62
Tabela 4. Coordenadas cartesianas calculadas para o complexo $\text{Cu}(\text{dpq})_2(\text{H}_2\text{O})^{2+}$ (1).	79
Tabela 5. Coordenadas cartesianas calculadas para o complexo $\text{Cu}(\text{L}_1)(\text{dpq})^+$ (2).	80
Tabela 6. Coordenadas cartesianas calculadas para o complexo $\text{Cu}(\text{L}_1)(\text{phen})^+$ (3).	82
Tabela 7. Coordenadas cartesianas calculadas para o complexo $\text{Cu}(\text{L}_2)(\text{dpq})^+$ (4).	84
Tabela 8. Coordenadas cartesianas calculadas para o complexo $\text{Cu}(\text{L}_1)(\text{OAC})$ (5).	85
Tabela 9. Dados cristalográficos do complexo $[\text{Cu}(\text{L}_1)(\text{dpq})]\text{ClO}_4$ (2).	88
Tabela 10. Coordenadas atômicas ($\times 10^4$) e parâmetros de deslocamento isotrópico ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) para $[\text{Cu}(\text{L}_1)(\text{dpq})]\text{ClO}_4$ (2) onde $U(\text{eq})$ é definido como um terço do traço do tensor ortogonalizado U^{ij}	89
Tabela 11. Comprimentos (Å) e ângulos (°) de ligação selecionados para o complexo $[\text{Cu}(\text{L}_1)(\text{dpq})]\text{ClO}_4$ (2).	90
Tabela 12. Parâmetros de deslocamento anisotrópico ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) para o complexo $[\text{Cu}(\text{L}_1)(\text{dpq})]\text{ClO}_4$ (2). O fator de deslocamento anisotrópico é calculado da seguinte maneira: $-2 \pi^2 [h^2 a^{*2} U_{11} + \dots + 2 h k a^* b^* U_{12}]$	95

1 Introdução

1.1 CÂNCER – O PROBLEMA

Segundo um recente relatório da Organização Mundial da Saúde (OMS), os diversos tipos de câncer são atualmente a maior causa de mortes por todo o mundo. Somente em 2007 foram 7,9 milhões de casos fatais por todo o mundo (13% de todas as mortes do ano). Especialmente no Brasil, o câncer está lado a lado com as doenças comunicáveis como terceiro maior causador de mortes, matando cerca de 190,000 pessoas no país em 2005, sendo 113,000 com menos de 70 anos. Nos homens, o maior percentual de casos é devido a câncer de pulmão, brônquios e traquéia e nas mulheres, o câncer de mama. A projeção é de crescimento do número de casos por todo o mundo, com uma estimativa de 12 milhões de mortes em 2030. (Disponível em: <http://www.who.int/cancer/en/>, Acesso em: Novembro de 2009) Dada a situação alarmante, a própria OMS em 2005 na 58ª Assembléia Mundial da Saúde lançou um relatório com uma série de recomendações a respeito, incluindo: “dar prioridade [...] à pesquisa na prevenção, detecção e estratégias de administração do câncer”. (58th WORLD HEALTH ASSEMBLY APPROVED RESOLUTION ON CANCER PREVENTION AND CONTROL, 2005)

Câncer é a designação genérica de qualquer tipo de tumor maligno. Ele se dá quando células doentes, com algum distúrbio genético, passam a se reproduzir mais rapidamente do que as células normais levando à formação de um tumor que cresce acelerada e desordenadamente. Essas células geralmente são menos especializadas nas suas funções que as suas correspondentes normais. E conforme as células cancerosas vão substituindo as normais, os tecidos invadidos vão perdendo suas funções, o que pode levar à falência de órgãos e a morte do paciente (ALMEIDA et al., 2005).

No tratamento desta doença, os três tipos de operação mais comumente utilizados são: a cirurgia, a radioterapia e a quimioterapia; todos com ampla utilização e eficácia comprovada na cura. Entretanto, devido aos graves efeitos colaterais e da eficiência limitada das terapias tradicionais, alternativas estão sendo constantemente propostas na área da oncologia. Dentre estas se destaca a Terapia Fotodinâmica (TFD) como uma modalidade relativamente nova no tratamento de câncer (SIMPLÍCIO; MAIONCHI; HIOKA, 2002).

1.2 TERAPIA FOTODINÂMICA (TFD)

A Terapia Fotodinâmica (TFD) é um método emergente de tratamento de câncer de forma não invasiva, com a vantagem de se utilizar uma droga fotoativada localizada especificamente nas células tumorais, deixando as células saudáveis inafetadas. Ou seja, a não ser que o paciente seja alérgico à droga em si, praticamente não há efeitos colaterais em células saudáveis visto que o composto só vai ser ativo nas células atingidas por luz de uma faixa de comprimentos de onda (MACHADO, 2000).

Na TFD, a combinação droga mais luz formam a base do mecanismo de ação. Um composto fotossensível é introduzido no paciente e se acumula preferencialmente em células que se reproduzem rapidamente. Essas são posteriormente irradiadas, via laser através de um cateter de fibra óptica, junto ao tecido do paciente. A luz ativa o composto, gerando espécies reativas de oxigênio que necrosam ou afetam convenientemente o tumor, levando-o ao colapso e à ação curativa do paciente. Em certos casos, onde a cirurgia do tumor é complexa devido ao seu tamanho ou à dificuldade de acesso, recomenda-se a aplicação da TFD como tratamento pré-operatório para promover a diminuição do mesmo (Figura 1) (SIMPLÍCIO; MAIONCHI; HIOKA, 2002).

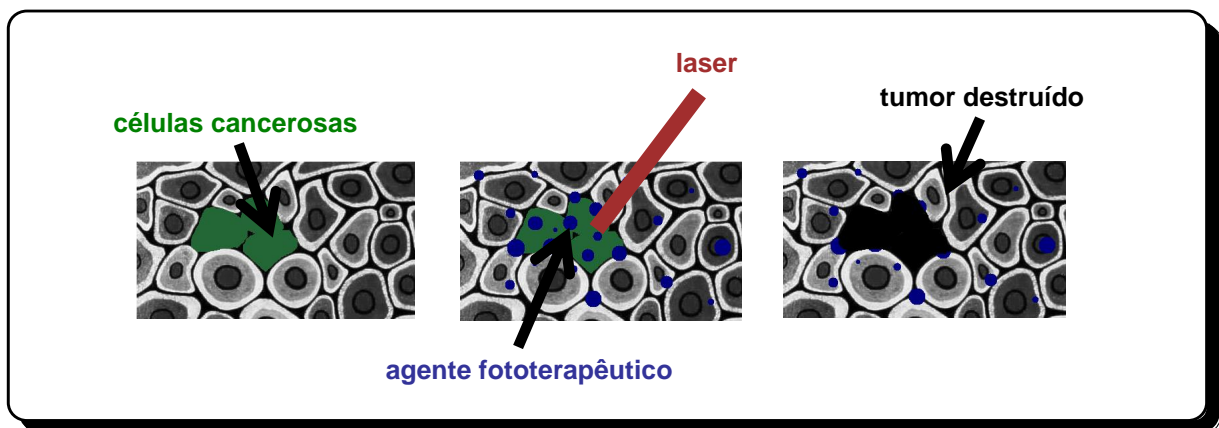


Figura 1. Esquema de funcionamento da terapia fotodinâmica.

1.3 MECANISMO DE AÇÃO

A grande eficácia da TFD se dá devido à ação de espécies reativas de oxigênio geradas seletivamente pela irradiação do fotosensibilizador. Especificamente, a espécie citotóxica mais comumente empregada é o chamado “oxigênio singlete”. Esta é gerada quando a molécula fotossensível é excitada por um fóton e se interconverte ao seu estado tripleto que, se for relativamente estável ($\tau \geq 500$ ns), converte o oxigênio de seu estado fundamental tripleto para seu estado singlete tóxico, como mostrado na Figura 2 (SZACIOWSKI et al., 2005).

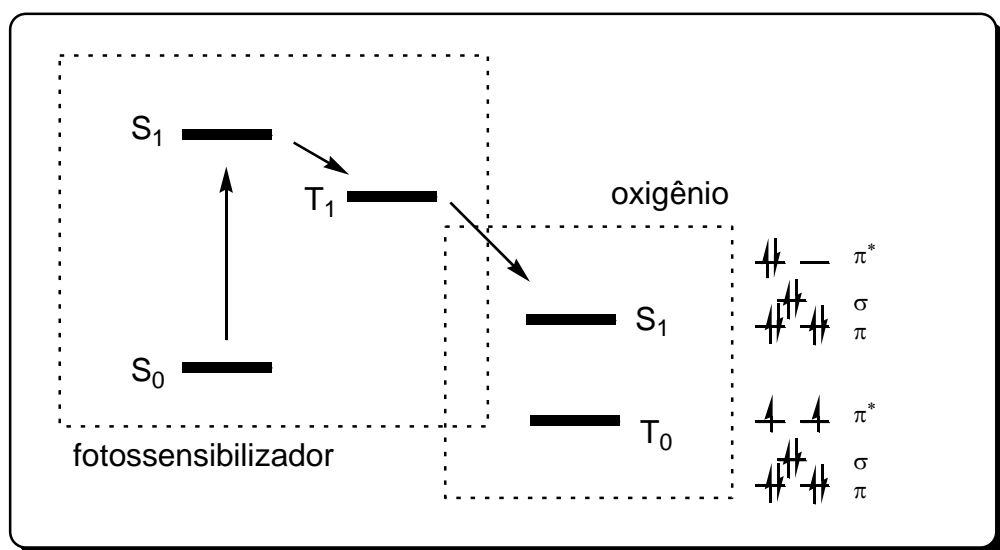


Figura 2. Processos físico-químicos relacionados à TFD.

Na verdade, “oxigênio singlete” é o termo que denomina os três estados eletronicamente excitados imediatamente superiores ao oxigênio molecular no estado fundamental $^3\Sigma_g$: $^1\Delta_x$, $^1\Delta_y$ e $^1\Sigma_g$. O orbital molecular vazio π^* garante ao oxigênio singlete um caráter eletrofílico, π ácido, que favorece sua participação mais efetiva em reações químicas, principalmente no caso em que os substratos possuem sítios ricos em elétrons (MACHADO, 2000).

A ação do oxigênio singlete (1O_2 $^1\Delta_g$) na morte ou inviabilização das células tumorais tem sido evidenciada de diversas maneiras. Foram isolados diversos derivados oxidados de colesterol como produto da degradação induzida de tecidos vivos, por via fotoquímica, tanto pelo agente terapêutico hematoporfirina como pelo cloro-Al(III) ftalocianina hematoporfirina. Algumas das biomoléculas estudadas, com seus produtos de oxidação pelo oxigênio singlete são mostradas na Figura 3.

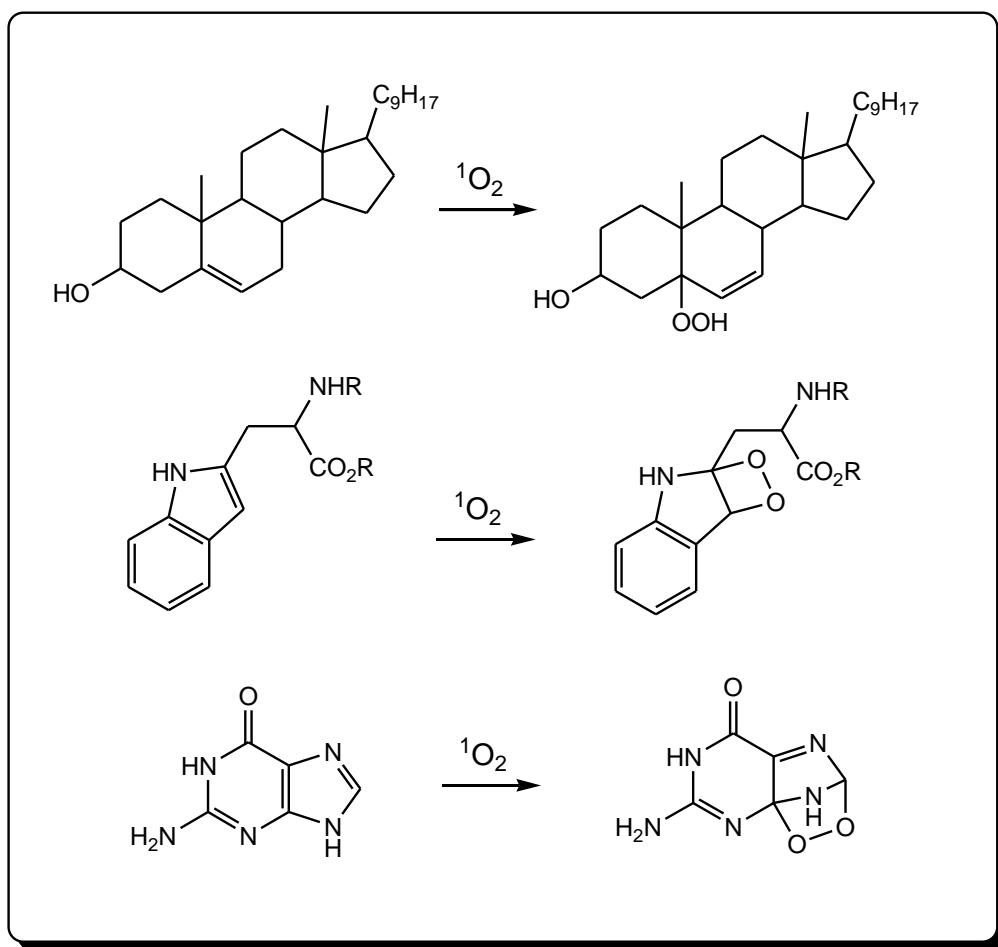


Figura 3. Produtos de oxidação de biomoléculas com oxigênio singlete (1O_2).

Entretanto, além da ação do oxigênio excitado, a atividade da TFD pode ser associada à ação de radicais livres. Espécies radicalares como ânions superóxido e radicais hidroxila podem ser formados durante o processo de diversas formas, em alguns casos dependendo do comprimento de onda utilizado. Já foram isolados complexos que agem por via completamente radicalar, sem ação do oxigênio singlete (DHAR et al., 2006; ROY et al., 2007) e outros onde a presença de oxigênio no meio é absolutamente necessária (SASMAL et al., 2007). Quando a reação ocorre por transferência de elétrons gerando radicais, o mecanismo fotoquímico é conhecido como Tipo I, quando via oxigênio singlete, o mecanismo é chamado Tipo II, ilustrados na Figura 4 a seguir (SZACIOWSKI et al., 2005).

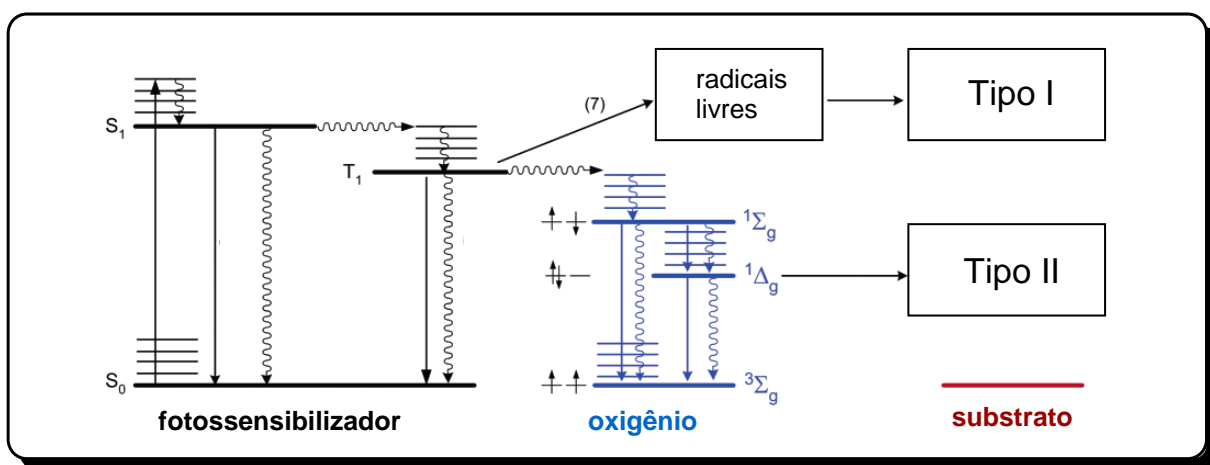


Figura 4. Diagrama de Jablonski para os mecanismos fotoquímicos relacionados à TFD.

1.4 UM BREVE HISTÓRICO DOS AGENTES TERAPÊUTICOS

A chamada “primeira geração” dessas drogas foi baseada em hematoporfirinas quimicamente modificadas. Schrerer, em 1841, isolou um precipitado após aquecer sangue humano com ácido sulfúrico, o qual possuía propriedades fluorescentes. Três décadas depois o precipitado foi nomeado de “hematoporfirina”. Em 1913, o alemão Friedrich Meyer-Betz injetou em si mesmo 200 mg de hematoporfirinas e observou que sua pele tornou-se sensível à luz do sol por vários meses, descrevendo dor prolongada na pele quando exposto (SIMPLÍCIO; MAIONCHI; HIOKA, 2002).

Mais tarde, na década de 50, foi demonstrado por Schwartz que nos experimentos de Meyer-Betz, o princípio ativo não era a hematoporfirina (pois esse composto é facilmente eliminado no organismo), mas na realidade tratava-se de uma mistura de diversas substâncias oligoméricas provenientes do método original de síntese e isolamento da mesma. Desde então, diversas experiências foram realizadas com estas e outras substâncias até que na década de 70 surgiu o Photofrin II[®] por Dougherty. Posteriormente, no fim da década de 80, a empresa QLT Inc., através de purificações e otimizações do preparado anterior, via processos de liofilização, chegou ao medicamento Photofrin[®], representado na Figura 5. (Disponível em: <http://www.photofrin.com/>, Acessado em: Novembro de 2009)

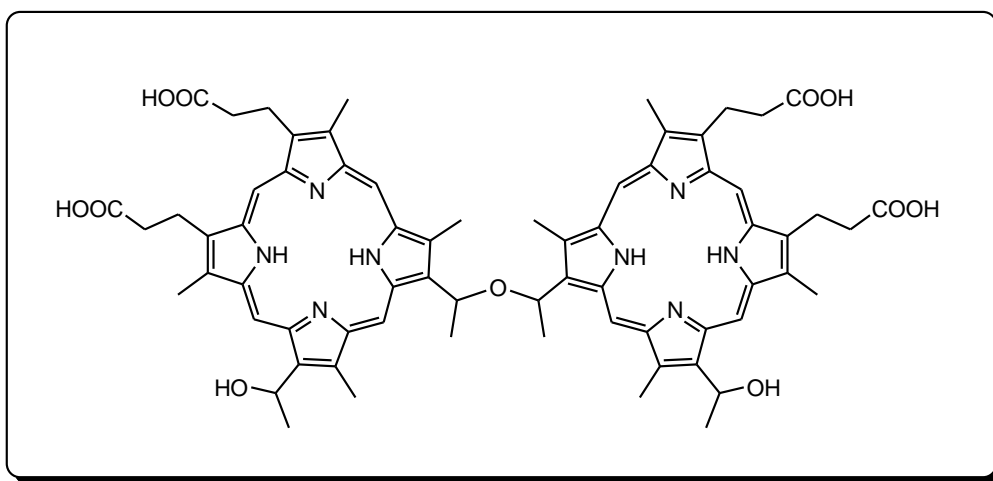


Figura 5. Representação da estrutura do agente fototerapêutico Photofrin[®] na forma éter.

O Photofrin[®] hoje é aprovado pela FDA/EUA (Food and Drug Administration) para o tratamento de câncer e bastante utilizado inclusive em casos de outras doenças de pele. No Brasil, o fármaco também foi aprovado para o tratamento de neoplasias (MACHADO, 2000).

Apesar da sua eficácia como fármaco, o Photofrin[®] deu lugar a uma segunda geração de agentes fotossensibilizantes que possuem máximos de absorção mais próximos do infravermelho (o que permite uma maior penetração da luz nos tecidos) e que podem ser usados em menor quantidade, com maior eficiência e menos toxicidade.

A segunda geração de agentes fototerapêuticos é, na sua maioria, baseada em porfirinas sintéticas e semi-sintéticas desenvolvidas especificamente para utilização em TFD. Algumas delas, como o Levulan[®], são pró-drogas que, quando injetadas no paciente, são sintetizadas pelo metabolismo e alocam-se em lugares específicos. Estes fármacos mais especificamente desenhados possuem rendimentos quânticos melhores, fórmulas mais bem definidas e coeficientes de absorção significativamente maiores nas regiões de interesse (de 10^4 a 10^5). Algumas porfirinas e derivados da segunda geração e o precursor do Levulan[®] são representados na Figura 6 (MITTON; ACKROYD, 2008).

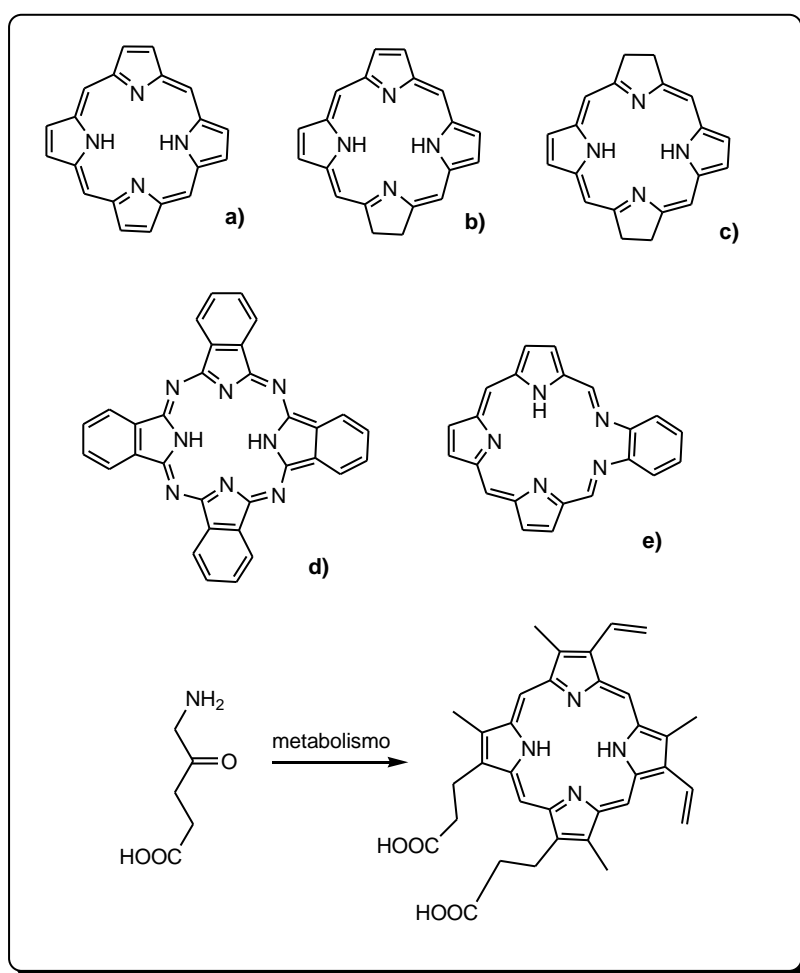


Figura 6. Esqueletos de alguns fotossensibilizadores polipirrólicos: a) porfirina, b) clorina, c) bacterioclorina, d) ftalocianina e e) taxapirina. Abaixo, o ácido 5-amino-4-oxopentanóico, precursor do agente Levulan[®].

Apesar da sua grande utilidade no tratamento de neoplasias, ainda assim, drogas baseadas em porfirinas apresentam toxicidade no escuro e hepatotoxicidade devido à formação de bilirrubina por conversão oxidativa e algumas pessoas são alérgicas a esse tipo de composto (DHAR; NETHAJI; CHAKRAVARTY, 2006). Por esta causa, há um ímpeto recente na procura de moléculas orgânicas e inorgânicas não porfirínicas adequadas às aplicações de TFD. Entre estas podem se destacar quatro principais classes: pigmentos orgânicos (eosina, azul de metileno), hidrocarbonetos aromáticos, semicondutores e complexos metálicos (SZACIOWSKI et al., 2005). Recentemente, tem-se também estudado o uso de nanopartículas para aplicar-se a TFD, utilizando-as como suporte e transporte dos compostos listados acima (WILSON; PATTERSON, 2008).

1.5 COMPLEXOS METÁLICOS NA TFD

Dos complexos de metais de transição não-porfirínicos, os complexos polipiridínicos da série 4d e 5d têm sido extensivamente estudados pelas suas propriedades de quebra de DNA fotoinduzida. Complexos de rutênio e polipiridinas são conhecidos por quebrar DNA na luz visível. Complexos fenantrolínicos de diródio(II) também apresentam clivagem oxidativa do DNA na luz visível por mecanismos com e sem oxigênio (Figura 7) (KALSBECK et al., 1994; ANGELES-BOZA et al., 2004; MAURER et al., 2004; MIAO et al., 2006; HERGUETA-BRAVO et al., 2002).

Tais complexos normalmente apresentam atividade de quebra do DNA devido às transições $^3(n-\pi^*)$ e/ou $^3(\pi-\pi^*)$ das unidades quinoxalina/phenazina dos ligantes coordenados, que podem interconverter oxigênio à sua forma ativa (DHAR; NETHAJI; CHAKRAVARTY, 2006; ANGELES-BOZA et al., 2004; MAURER et al., 2004). Outros possuem atividade atribuída a propriedades redox dos complexos, com a redução do metal, oxidando as bases do DNA (especialmente a guanina que possui o menor potencial redox) (ROY, 2007), ou por abstração de próton, como foi sugerido por reações modelo (KALSBECK et al., 1994). Entretanto, estes complexos são geralmente inativos na chamada “janela fototerapêutica” entre 620-850 nm.

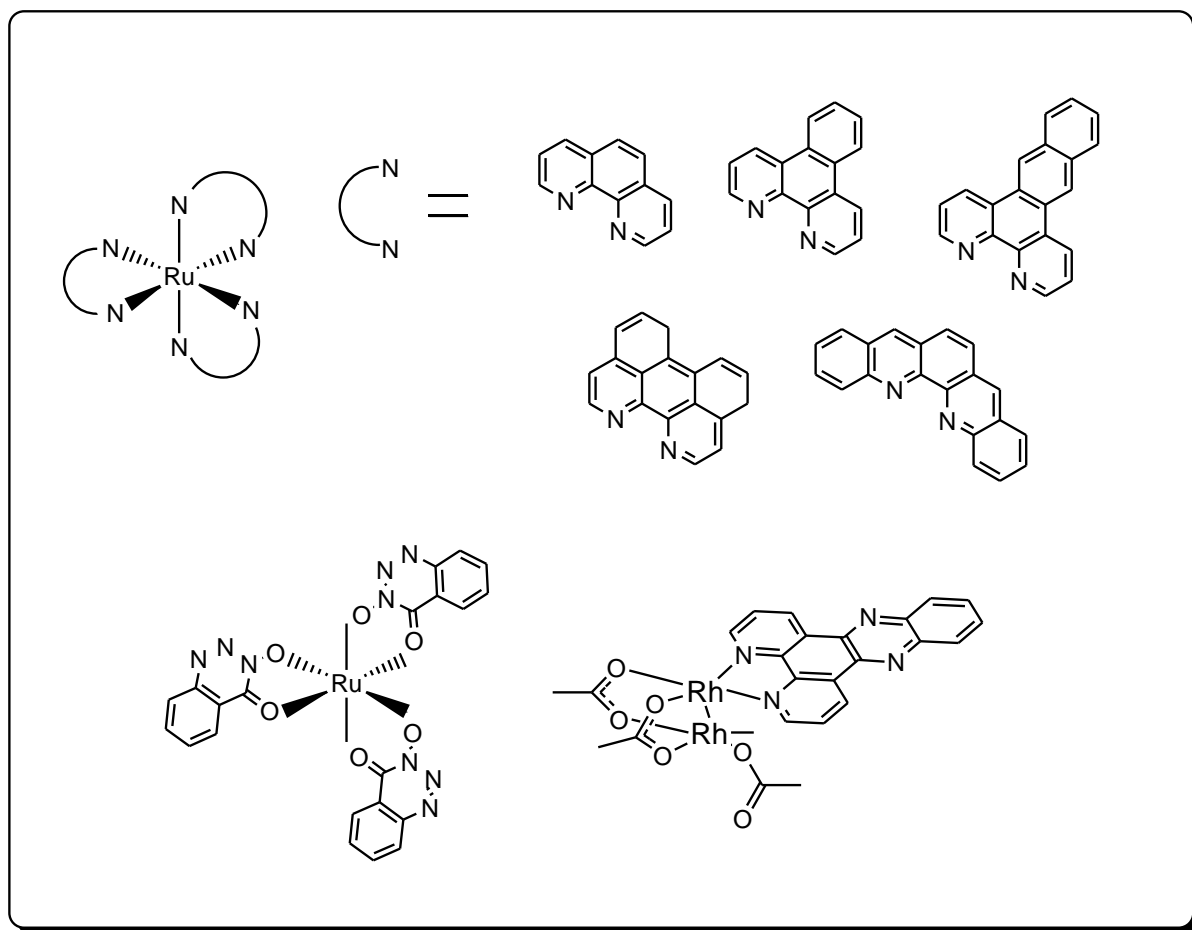


Figura 7. Exemplos de complexos capazes de quebrar o DNA na presença de luz.

1.6 COMPLEXOS DE COBRE

Na tentativa de sintetizar complexos que possuam transições eletrônicas viáveis à aplicação em TFD, além das novas porfirinas da segunda geração, alguns complexos mononucleares de metais de transição da série 3d foram sintetizados. Estes possuem transições d-d ou transferências de carga na região mais próxima do infravermelho. Complexos desta classe têm se mostrado bem ativos na quebra de DNA de plasmídeo na região entre 600 e 800 nm bem como na região do ultravioleta (DHAR et al., 2003; SASMAL et al., 2007; DHAR, NETHAJI, CHKRAVARTY, 2005; ROY et al, 2008; PATRA, NETHAJI, CHKRAVARTY, 2005; PATRA et al., 2007;

SANTRA et al., 2002, LAHIRI et al., 2009, SASMAL, PATRA, CHAKRAVARTY, 2008).

Tais complexos são sintetizados a partir de derivados de fenantrolinas ou outras diiminas que se intercalam ao DNA e muitas vezes também promovem a clivagem (DHAR, NETHAJI, CHAKRAVARTY, 2005). Além dos ligantes intercalantes, na maioria dos casos, utiliza-se outro ligante que age como fotossensibilizador ou protetor de um grupo fotossensibilizante. Já foi demonstrado inclusive que, no caso complexos de cobre(II) com o ligante intercalante e fotoativo dipirido[3,2-d:2',3'-f]quinoxalina (conhecido como dpq), a atividade é maior quando há um segundo ligante diferente que age como protetor do estado ativado do dpq (ROY et al, 2008).

Há uma série de complexos de cobre(II) sintetizados a partir destas descobertas que possuem uma boa atividade, inclusive recentemente frente a células tumorais, com atividade (IC_{50}) semelhante ao de agentes anticancerígenos classicamente conhecidos como a cisplatina (RAMAKRISHNAN et al., 2009) . A maioria desses complexos age via ativação de oxigênio singleto, como foi demonstrado, mesmo quando a banda irradiada é a de transição d-d do metal (DHAR et al., 2003). Porém há outros em que a atividade depende da formação do ânion radical superóxido ou de radicais hidroxila quando irradiados pela luz visível. Alguns desses complexos de cobre(II) com fotoatividade frente ao DNA estão representados na Figura 8.

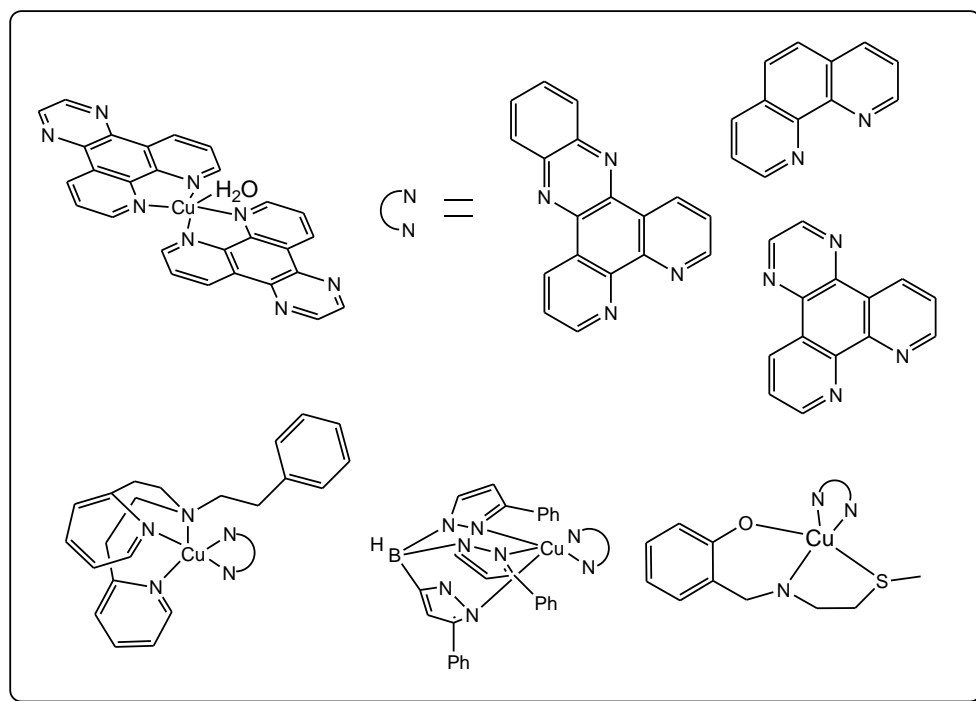


Figura 8. Alguns complexos mononucleares de cobre(II) com atividade no DNA.

Mesmo apresentando absorção de luz na região adequada e uma boa eficiência na clivagem do DNA, os complexos de cobre(II), passíveis de serem utilizados em TFD, ainda apresentam um problema considerável. Eles possuem atividade no escuro, quando na presença de um agente redutor, muitas vezes até maior do que na presença de luz (LAHIDRI et al., 2009). Esta atividade se dá por causa dos baixos potenciais de redução dos complexos que, na presença de tióis e outros redutores do organismo, reduzem-se a complexos de cobre(I), formando superóxidos e outros radicais deteriorantes na reoxidação (Figura 9). Alguns estudos já foram feitos a fim de elucidar deste efeito, utilizando-se de ácido ascórbico e ácido mercapto propanóico como redutores, comprovando a quebra do DNA nestes casos mesmo na completa ausência de luz (SANDRA et al., 2002; ROY et al., 2008).

A fim de resolver o problema da atividade no escuro, uma proposta recente foi a de utilizar complexos de vanádio(IV) oxo ao invés de complexos de cobre(II) já que estes não sofrem redução pelos redutores biológicos. Estes complexos, que possuem uma configuração eletrônica $3d^1$, apresentam bandas de baixa energia no visível, como complexos $3d^9$ de cobre(II). Ficou comprovado que tais complexos podem mimetizar as propriedades de seus análogos de cobre(II), sem o revés de atividade no escuro na presença de agentes redutores. Entretanto, os complexos de

V(IV) geralmente têm coeficientes de absorção muito pequenos na região do visível (ϵ em torno de $40 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) e não têm nenhuma contribuição significativa do metal no mecanismo de quebra do DNA, contando apenas com os fotossensibilizadores, o que reduz significativamente a eficácia de tais complexos, necessitando de mais tempo e maior potência do laser para uma atividade semelhante (SASMAL, PATRA, CHAKRAVARTY, 2008). Alguns exemplos destes complexos propostos estão representados na Figura 9.

Ainda outra proposta recente de melhora dos problemas associados ao cobre(II), foi a de complexos de ferro(III) com um ligante que tem braços de 3,5-di-*terc*-butilfenol. Neste complexo, ficou comprovado que irradiação de luz na banda de transferência de carga gera um complexo radicalar relativamente estável de Fe(II) que subsequentemente destrói o DNA. Apesar de não possuir atividade no escuro, possui um máximo de absorção longe do infravermelho, em 470 nm, o que ainda não o torna muito adequado à aplicações na TFD (Figura 9) (ROY et al., 2007) .

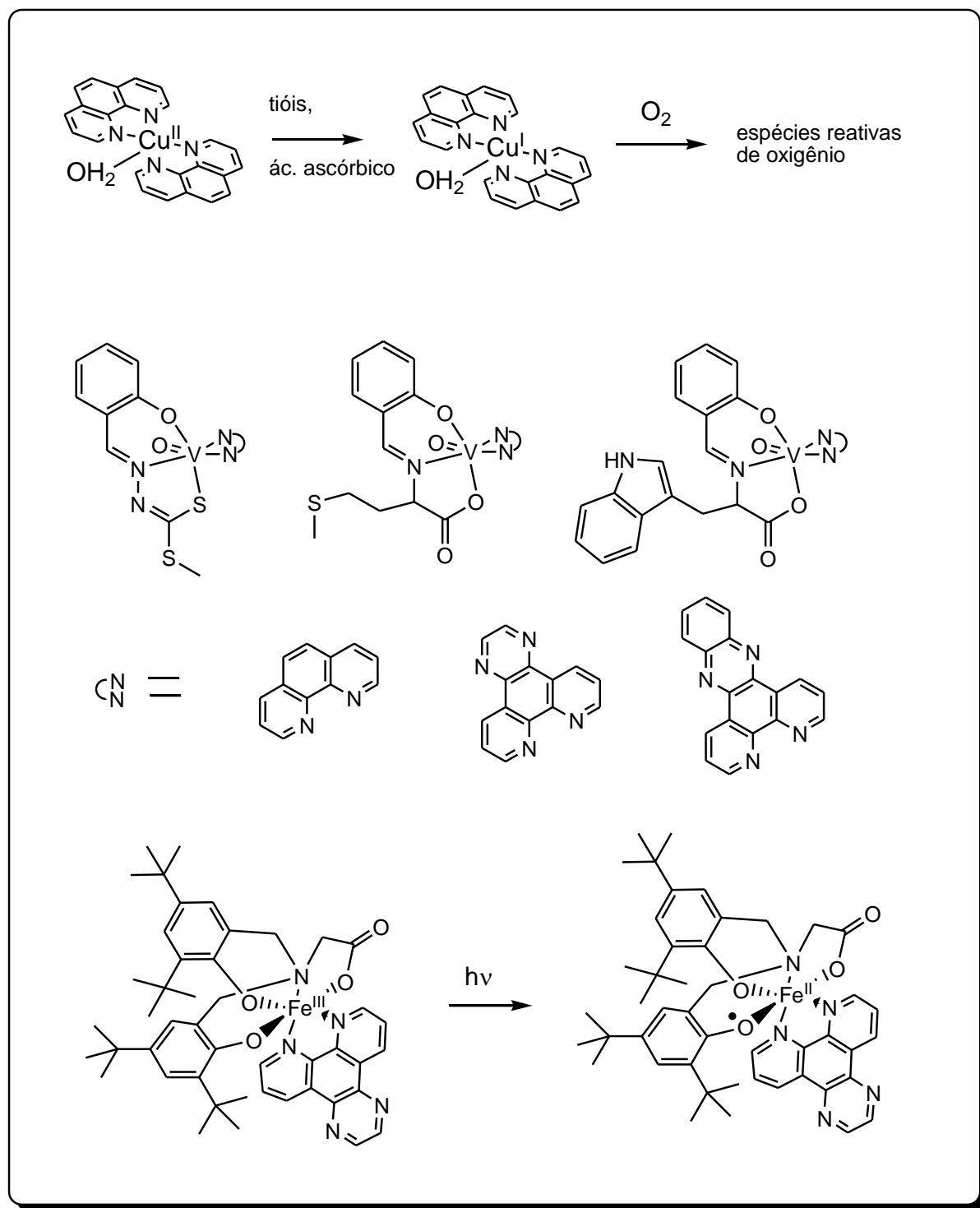


Figura 9. Esquema da redução dos complexos de cobre no escuro; complexos de vanádio(IV) estudados recentemente; e complexo de ferro(II), representando a formação do radical fenoxil na presença de luz.

Diante dos resultados da literatura até agora, fica evidente que ainda há o que se explorar na química de complexos de metais de transição não porfirínicos em termos da sua aplicação à TFD. Os complexos de cobre(II) têm se mostrado os mais interessantes da série 3d por possuírem coeficiente de absorção adequado na faixa útil de trabalho (600-800nm) e ainda um certa cooperatividade entre as atividades do agente fotossensibilizante e do metal, o que promove uma boa atividade resultante na quebra do DNA.

Neste trabalho, propõe-se a síntese de quatro novos complexos mononucleares de cobre(II) com os intercalantes 1,10-fenantrolina e 1,10-dpq e com outros ligantes auxiliares derivados de fenóis a fim de se avaliar a influência de parâmetros estruturais e eletrônicos na atividade total e, aumentando o potencial de redução dos complexos, impedir a atividade de degradação do DNA na presença de agentes redutores no escuro. O ligante derivado do 3,5-di-*tert*-butilfenol foi utilizado com o intuito de avaliar também a influência da formação de radicais fenoxil na atividade frente ao DNA. Cálculos teóricos foram realizados para o estudo da estrutura eletrônica dos complexos e algumas novas correlações entre atividade experimental e parâmetros teóricos foram propostos. Os complexos sintetizados $[\text{Cu}(\text{dpq})_2(\text{H}_2\text{O})]\text{ClO}_4$ (**1**), $[\text{Cu}(\text{L}_1)(\text{dpq})]\text{ClO}_4$ (**2**), $[\text{Cu}(\text{L}_1)(\text{phen})]\text{ClO}_4$ (**3**), $[\text{Cu}(\text{L}_2)(\text{dpq})]\text{ClO}_4$ (**4**), $[\text{Cu}(\text{L}_1)(\text{OAc})]$ (**5**), estão representados na Figura 10.

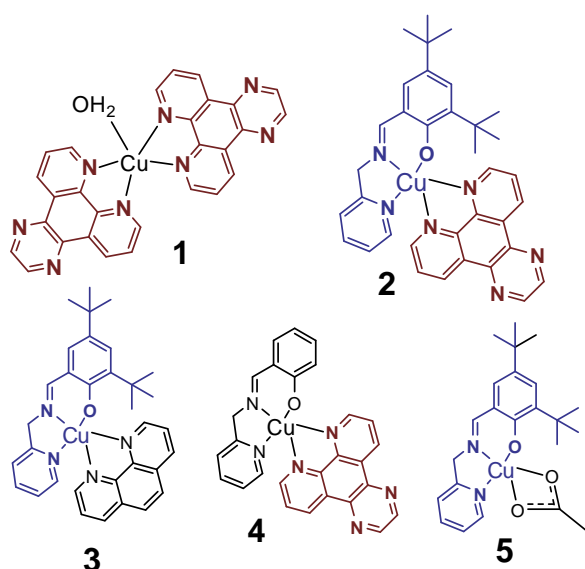


Figura 10. Estruturas dos complexos **1-5** estudados.

2 Objetivos

- Sintetizar e caracterizar via técnicas eletroquímica e espectroscópicas, novos complexos mononucleares de cobre(II) com potencial aplicação em Terapia Fotodinâmica.
- Avaliar a clivagem de DNA plasmidial pelos complexos no escuro e quando irradiados sob luz visível (635 nm), ultravioleta (365 nm), na presença e ausência de uma série de reagentes auxiliares a fim de esclarecer o mecanismo de fotoclivagem.
- Calcular, através da Teoria do Funcional de Densidade, as estruturas moleculares otimizadas e as estruturas eletrônicas para os complexos sintetizados e correlacionar parâmetros teóricos com a atividade experimental.

3 Experimental

3.1 MATERIAIS, MÉTODOS E INSTRUMENTAÇÃO

3.1.1 MATERIAIS

Os seguintes solventes e reagentes utilizados foram obtidos de fontes comerciais e utilizados sem purificação prévia: acetonitrila, metanol, etanol, salicilaldeído, fenantrolina, ácido sulfúrico, brometo de potássio, 3,5-di-*terc*-butil-fenol, perclorato de cobre(II), DNA Calft Thymus (DNA-CT), trietilamina e argônio 5.0. O hexafluorofosfato de tetrabutilamônio (recristalizado), a 2-aminometil-piridina (destilada) e a etilenodiamina (destilada) foram comprados de fontes comerciais e purificados para o uso. O tampão Tris(hidroximetil)amino-metano-HCl (Tris-HCl) foi preparado com água deionizada MilliQ (Milipore). A base heterocíclica dpq foi preparada de acordo com procedimentos previamente descritos, partindo da 1,10-fenantrolina-5,6-diona como precursor, reagindo com etilenodiamina (CHE et al., 2006). Os ligantes (3,5-di-*terc*-butil-2-hidroxibenzil)(2-piridilmetil)imina (HL₁) e (2-hidroxibenzil)(2-piridilmetil)imina (HL₂) também foram preparados seguindo procedimentos reportados na literatura (FINNEY; MITCHELL, 2004 e IMBERT, 2005). O plasmídeo pBSKII (2961 bp), usado para os ensaios de clivagem de DNA, foi comprado da Stratagene, transformados em DH5 α *Escherichia coli* e amplificados como previamente descrito (AUSUBEL et al., 1999). O plasmídeo puro foi extraído da *E. coli* e purificado usando o protocolo Qiagen Plamid Maxi Kit.

3.1.2 MÉTODOS E INSTRUMENTAÇÃO

3.1.2.1 GERAL

O espectro eletrônico dos complexos foi obtido em um espectrofotômetro Lambda 19 da Perkin Elmer na faixa de 200-900 nm utilizando células de vidro ou quartzo quando necessárias com 1 cm de caminho ótico. Os voltamogramas foram

obtidos em um potenciostato/galvanostato Epsilon da BAS utilizando-se um eletrodo de trabalho de platina, um eletrodo de referência Ag/Ag⁺ e um fio de platina como eletrodo auxiliar. O ferroceno foi utilizado como padrão interno em uma solução 0,1 mol L⁻¹ de TBAPF₆ em CH₃CN. Os espectros de infravermelho foram obtidos em um FT-IR 3100 Excalibur Series da Varian em pastilhas de KBr espectroscópico na região de 4500-450 cm⁻¹.

3.1.2.2 DIFRATOMETRIA DE RAIOS-X

A análise por difratometria de raios-X foi feita pelo prof. Adailton João Bortoluzzi na central de Análises do Departamento de Química –UFSC. Os dados foram coletados em um difratômetro Enraf-Nonius CAD-4 equipado com um tubo de molibdênio (MoK α λ = 0,71073 Å) e monocromador de grafite à temperatura ambiente. Os parâmetros de cela foram determinados a partir de 25 reflexões centradas e refinados pelo procedimento dos mínimos quadrados. Todos os dados foram corrigidos para os efeitos de Lorentz e de polarização. A correção de absorção semi-empírica ψ -scan foi aplicada à todas as intensidades coletadas (fatores de transmissão max. e min. de 0,865 e 0,699). Todos os átomos não-hidrogênio foram refinados anisotropicamente. A estrutura cristalina foi resolvida através de métodos diretos com a utilização do programa SHELXS97 (SHELDRICK, 1997) e refinados pelo método dos mínimos quadrados com matriz completo, com a utilização do programa SHELXS97 (SHELDRICK, 1997). As representações gráficas das estruturas moleculares foram geradas utilizando o programa ORTEP (FARRUGIA, 1997).

3.1.2.3 CÁLCULOS TEÓRICOS

Os cálculos apresentados neste trabalho foram realizados utilizando a Teoria do Funcional da Densidade (DFT) (PARR; YANG, 1989) com o funcional de correlação e troca PBE revisado por ZHANG e YANG, aqui referido como REVPBE (ZHANG, YANG, 1998). O conjunto de funções de base escolhido foi QZVPP para o átomo de Cu e TZV(P) para ou outros átomos, sem polarização nos átomo de hidrogênio. As otimizações da geometria para os complexos de Cu^{II}(t_{2g}⁶e_g³) foram feitas no nível de teoria DFT / REVPBE, começando a partir da estrutura resolvida por cristalografia de

Raios-X, com critérios de convergência do SCF e da geometria tidos como “Tight”. Os cálculos no ponto para estados eletrônicos quadrupletos foram realizados utilizando as mesmas geometrias obtidas na otimização das estruturas. Para incluir os efeitos do solvente, todos os cálculos utilizaram a abordagem “conductor-like screening model” (COSMO) desenvolvida por Klamt (Sennecker et al., 2006). Nesta abordagem, o solvente que no caso era água, é representado por um dielétrico polarizável contínuo. Todos os cálculos foram feitos com o auxílio do programa gratuito ORCA (Neese, 2007).

3.1.2.4 INTERAÇÃO COM O DNA-CT

O experimento utilizado para avaliar a interação dos complexos com o DNA foi feito a partir da titulação dos complexos com uma solução $610 \mu\text{mol L}^{-1}$ de DNA-CT, 50 mmol L^{-1} de tampão Tris-HCl (pH 7,2) e 50 mmol L^{-1} em NaCl, sendo a proporção de acetonitrila/água de 25/75 (v/v) $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$. A concentração final da solução de DNA-CT foi obtida através da absorbância em 260 nm ($\epsilon = 6.600 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Os complexos foram titulados com diferentes alíquotas de DNA-CT e o espectro obtido em cada ponto. Os valores de absorbância foram corrigidos para a diluição e a constante de equilíbrio K_b foi obtida por ajustar os valores à equação:

$$[\text{DNA}]/(\epsilon_a - \epsilon_f) = [\text{DNA}]/(\epsilon_b - \epsilon_f) + 1/K_b(\epsilon_b - \epsilon_f)$$

Onde ϵ_f e ϵ_b são as absorptividades molares do complexo livre e completamente ligado, respectivamente, e ϵ_a a absorptividade após cada adição (Wolf; Shimer Jr, 1987).

3.1.2.5 CLIVAGEM DO DNA

Os experimentos de clivagem do DNA foram realizados pelos alunos Franciele Luane Fischer e Tiago Bortolotto no Laboratório do Prof. Hernán Terenzi do Centro de Biologia Molecular Estrutural, Departamento de Bioquímica da UFSC.

A habilidade dos complexos em clivar o DNA foi examinada seguindo a conversão do DNA plasmidial superenovelado (SC) para as formas circular (NC) ou linear (L) utilizando eletroforese em gel de agarose para separar os produtos

clivados. Em geral, 330 ng de pBSK II (25 $\mu\text{mol L}^{-1}$ pb) tamponado com Tris-HCL (50 $\mu\text{mol L}^{-1}$, pH 7,2) em NaCl (50 $\mu\text{mol L}^{-1}$) foi tratado com concentrações diferentes dos complexos em $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ (75/25 v/v) e foto-irradiado com luz UV ($\lambda = 365 \text{ nm}$) a 37°C por 15 min ou com laser de luz vermelha ($\lambda = 635 \text{ nm}$) a 50°C por 20 min. Depois disso, cada reação foi suprimida adicionando 5 μL de um “tampão de corrida” (0,25% de azul de bromofenol, 50% de glicerol e 250 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de EDTA a pH 8) e então levado à eletroforese num gel de agarose 0,8% contendo 0,3 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de brometo de etídio e 0,5x em tampão TBE (44,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Tris, 44,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de ácido bórico e 1 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de EDTA) a 90 V por aproximadamente 1,5h. Os géis resultantes foram visualizados e digitalizados com um sistema de documentação de géis DigiDoc-It (UVP, USA). A proporção de DNA em cada banda foi quantificada utilizando o software Lab-WorksTM 4.0 (UVP, USA). A proporção de DNA superenovelado foi aumentada por um fator de 1,47, já que a habilidade do brometo de etídio de intercalar na sua forma topoisomérica é menor relativamente às formas circular e linear (AUSUBEL *et al.*, 1999).

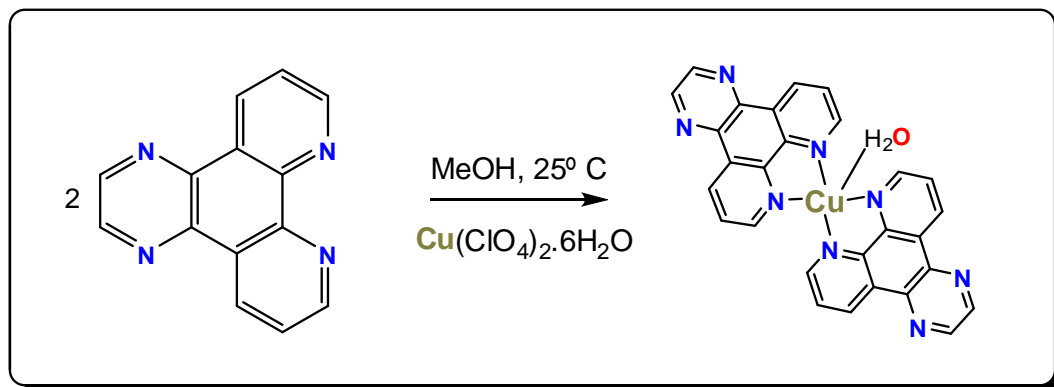
Para elucidar os mecanismos de clivagem do DNA pelos complexos estudados, diferentes inibidores de espécies reativas de oxigênio e oxigênio singlete foram adicionados ao DNA antes dos complexos. Estes inibidores foram: dimetil sulfóxido (DMSO, 10%), KI (500 $\mu\text{mol L}^{-1}$), superóxido dismutase (SOD, 15 unidades) e NaN_3 (500 $\mu\text{mol L}^{-1}$). Água deuterada (D_2O , 45%), que aumenta o tempo de meia vida do oxigênio singlete foi também utilizada. Além disso, reações anaeróbicas em argônio foram realizadas numa *glove bag*. Todas as soluções foram degaseificadas antes dos ensaios e as amostras foram irradiadas como descrito acima com luz UV. $\text{Fe}(\text{EDTA})^{2-}$ (100 $\mu\text{mol L}^{-1}$) mais ditioneitol (DTT, 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$) foram utilizados como controle positivo para a clivagem dependente de oxigênio como previamente descrito (OLIVEIRA *et al.*, 2005).

3.2 SÍNTESE DOS COMPLEXOS

Os ligantes HL_1 , HL_2 , dpq utilizados foram sintetizados e purificados de acordo com rotas sintéticas previamente descritas (FINNEY; MITCHELL, 2004; IMBERT, 2005 e CHE *et al.*, 2006) e caracterizados por infravermelho e RMN. O ligante 1,10-

fenantrolina foi obtido de fontes comerciais e utilizado diretamente sem purificação. Os complexos **1-5** foram caracterizados por CHN, condutividade, espectroscopia no infravermelho e UV-Vis e voltametria cíclica. Do complexo **2** foram obtidos cristais adequados e a estrutura deste foi resolvida por cristalografia de raios-X.

3.2.1 SÍNTESE DO COMPLEXO $[\text{Cu}(\text{dpq})_2(\text{H}_2\text{O})](\text{ClO}_4)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (**1**)



O complexo foi preparado seguindo um procedimento já descrito na literatura (SANTRA *et al.*, 2002). A uma solução de dpq (0,232 g; 1 mmol) em MeOH (15 mL), foi adicionado $\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,135 g; 0,5 mmol) à temperatura ambiente. Depois de 30 minutos, o sólido azul esverdeado foi filtrado, lavado com éter etílico e seco em vácuo. Rendimento: 0,301 g, 81%. λ_{max} em CH_3CN / nm (ϵ / $\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$): 690 (96). Condutividade molar em CH_3CN : $240 \text{ S m}^2 \text{mol}^{-1}$. Anal. cal. para $\text{C}_{28}\text{H}_{22}\text{Cl}_2\text{CuN}_8\text{O}_{11}$: C, 43.1; H, 2.8; N, 14.3%. Encontrado: C, 43.3; H, 2.3; N, 14.2%. IV (KBr), em cm^{-1} : ν ($\text{OH}_{\text{água}}$) 3406; ν (CH_{Ar}) 3089; ν ($\text{C}=\text{N}_{\text{Ar}}$ e $\text{C}=\text{C}_{\text{Ar}}$) 1581 - 1408; ν (ClO_4) 1103.

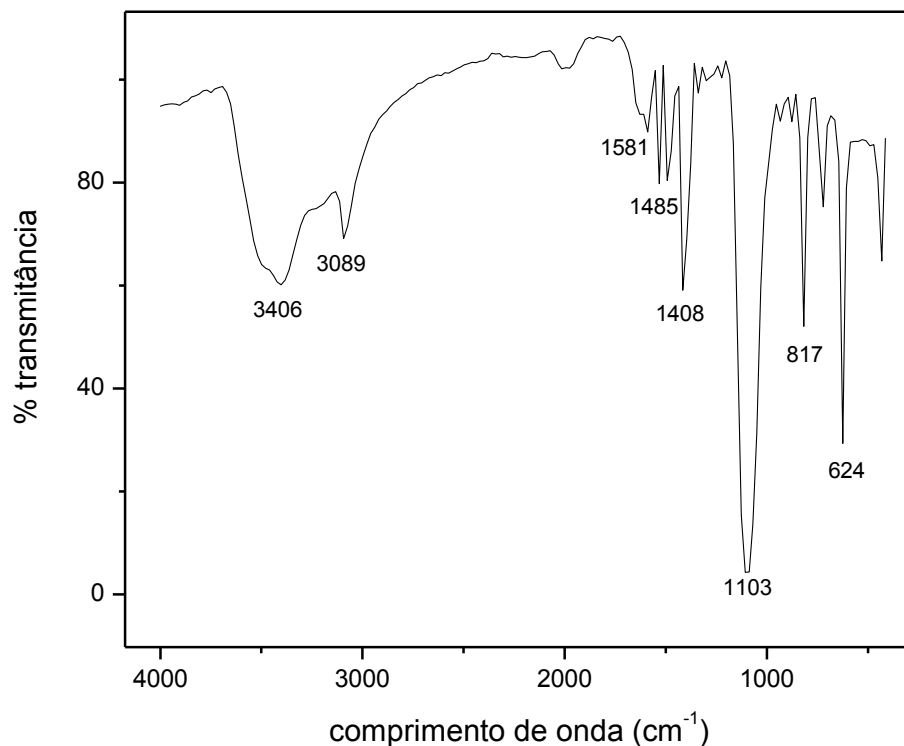
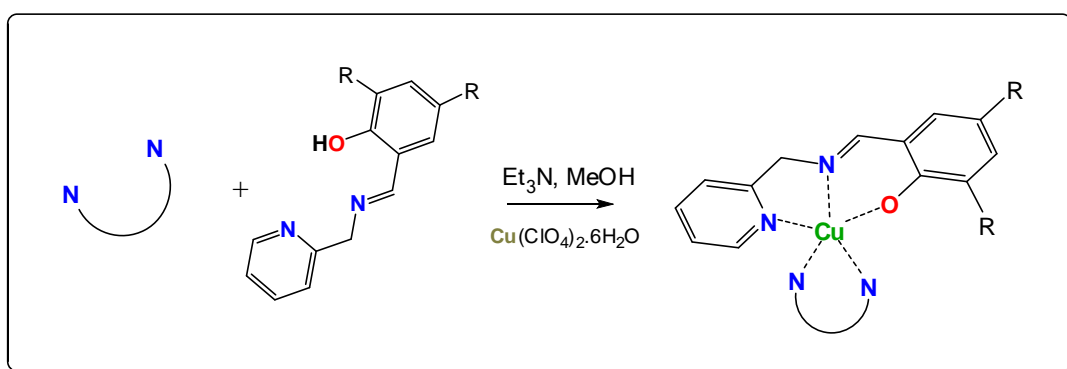


Figura 11. Espectro no infravermelho do complexo $[\text{Cu}(\text{dpq})_2(\text{H}_2\text{O})](\text{ClO}_4)_2$ (**1**) em KBr.

3.2.2 SÍNTESE DOS COMPLEXOS 2-4



Os complexos **2-4** foram sintetizados seguindo o mesmo procedimento geral: a base heterocíclica (0,5 mmol) foi dissolvida em MeOH (15 mL) e o $\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ foi adicionado. A mistura foi agitada à temperatura ambiente por 15 minutos e então o outro ligante (0,5 mmol) foi adicionado tornando a solução verde. Depois de mais

15 minutos, esta foi tratada com trietilamina (Et_3N , 0,5 mmol) e tornou-se verde escura. O precipitado verde foi coletado por filtração, lavado com éter e seco em vácuo. Os monocristais do complexo **2** foram obtidos por recristalização em CH_3CN .

3.2.2.1 $[\text{Cu}(\text{L}_1)(\text{dpq})](\text{ClO}_4) \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$ (**2**)

Rendimento: 0,197 g, 55%. λ_{max} em CH_3CN / nm (ϵ / $\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$): 396 (4700), 617 (227). Condutividade molar em CH_3CN : $123 \text{ S m}^2 \text{mol}^{-1}$. Anal. cal. para $\text{C}_{35}\text{H}_{35}\text{ClCuN}_6\text{O}_5 \cdot (\text{H}_2\text{O})_{1/2}$: C, 57.7; H, 4.9; N, 11.5%. Encontrado: C, 57.3; H, 4.4; N, 11.8%. IV (KBr), em cm^{-1} : ν (CH_{dpq}) 3084; ν (CH_{Ar} e CH_{Alif}) 2958-2871; ν ($\text{C}=\text{N}_{\text{Im}}$) 1618; ν ($\text{C}=\text{C}$) 1389; ν (ClO_4) 1091.

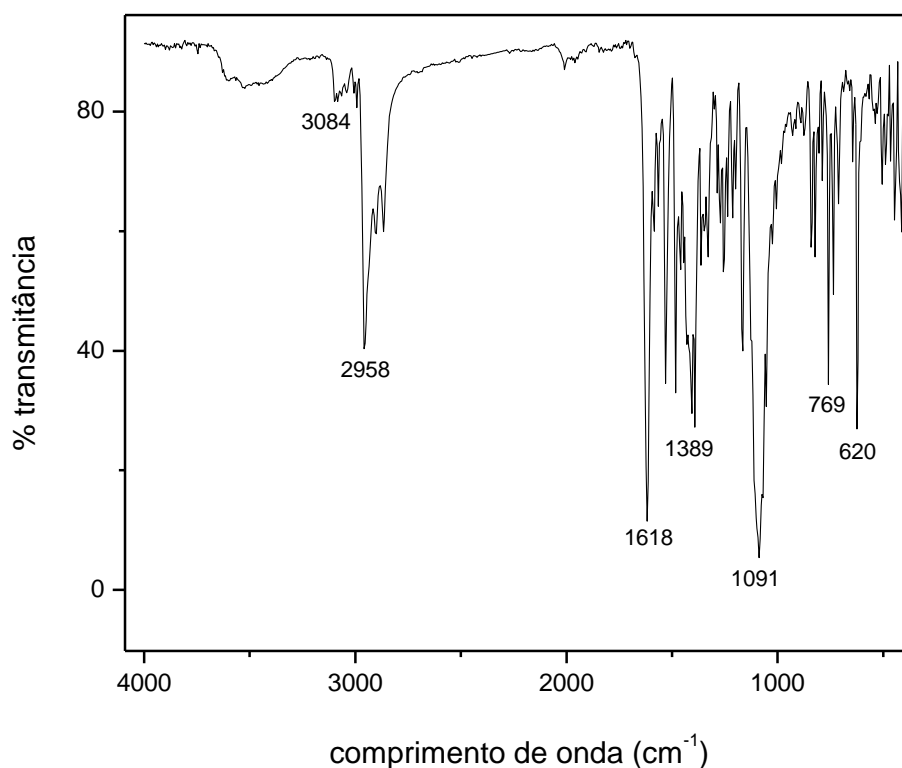


Figura 12. Espectro no infravermelho do complexo $[\text{Cu}(\text{L}_1)(\text{dpq})](\text{ClO}_4)$ em KBr.

3.2.2.2 [Cu(L₁)(phen)](ClO₄) (**3**)

Rendimento: 0.203 g, 61%. λ_{max} em CH₃CN / nm (ϵ / L mol⁻¹ cm⁻¹): 397 (4592), 616 (230). Condutividade molar em CH₃CN: 125 S m² mol⁻¹. Anal. cal. para C₃₃H₃₅ClCuN₄O₅: C, 59.4; H, 5.3; N, 8.4%. Encontrado: C, 59.5; H, 5.00; N, 8.7%. IV (KBr), em cm⁻¹ : ν (CH_{phen}) 3074; ν (CH_{Ar} e CH_{Alif}) 2954-2870; ν (C=N_{Im}) 1624; ν (C=C) 1519; ν (ClO₄) 1095.

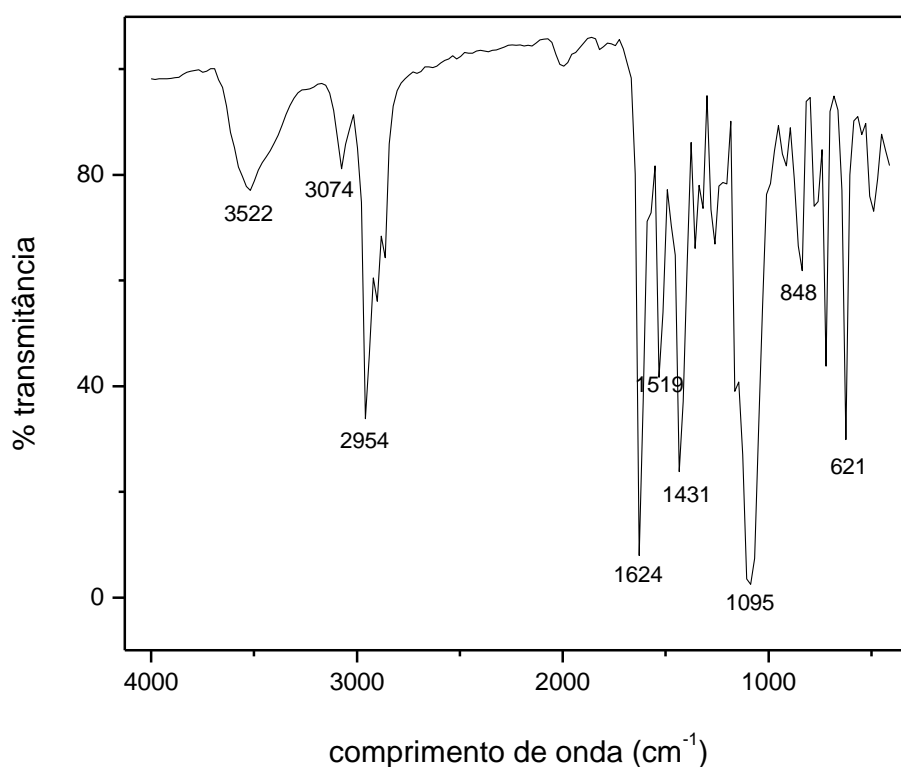


Figura 13. Espectro no infravermelho do complexo [Cu(L₁)(phen)](ClO₄) em KBr.

3.2.2.3 [Cu(L₂)(dpq)](ClO₄).H₂O (**4**)

Rendimento: 0.212 g, 70%. λ_{max} em CH₃CN / nm (ϵ / L mol⁻¹ cm⁻¹): 378 (4336), 621 (184). Condutividade molar em CH₃CN: 124 S m² mol⁻¹. Anal. cal. para C₂₇H₂₁ClCuN₆O₆: C, 51.9; H, 3.4; N, 13.5%. Encontrado: C, 51.9; H, 2.9; N, 13.5%. IV (KBr), em cm⁻¹ : ν (CH_{dpq}) 3074; ν (C=N_{Im}) 1631; ν (C=C) 1531; ν (ClO₄) 1087.

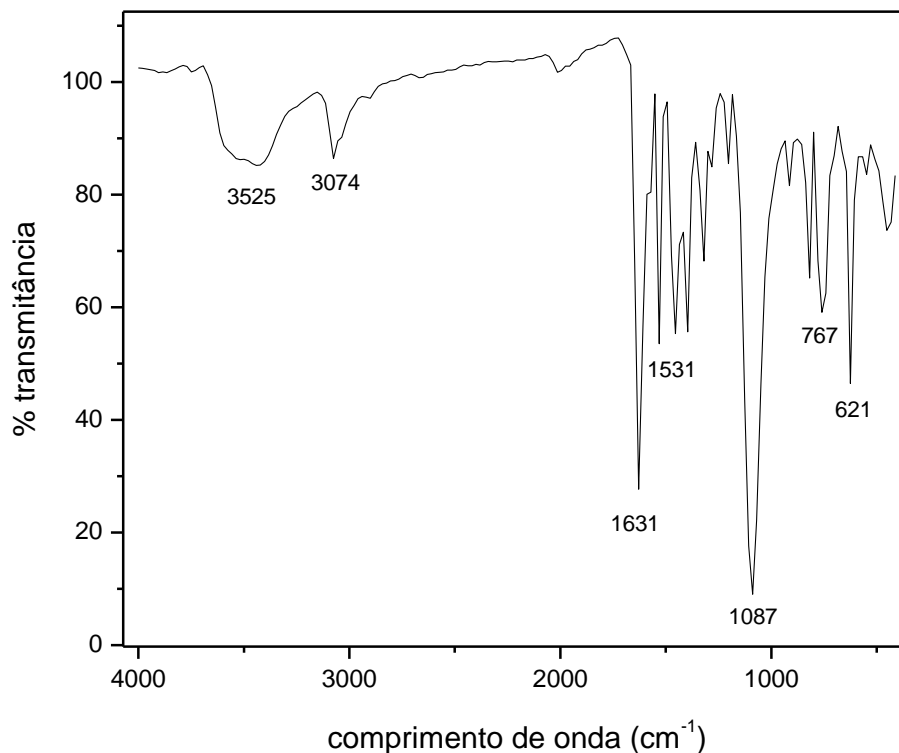
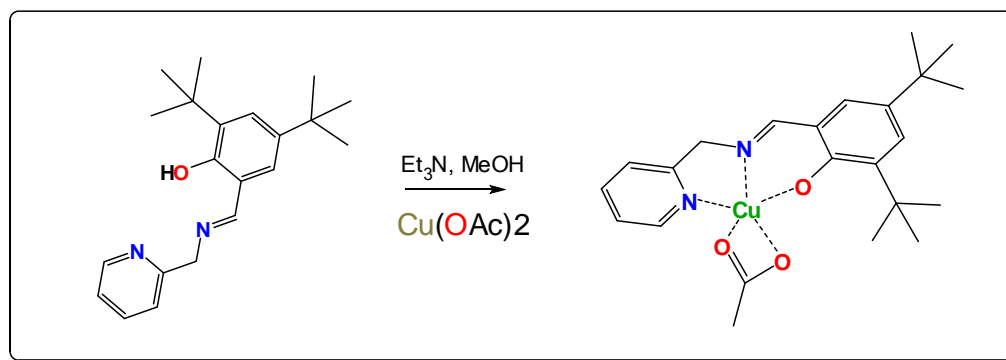


Figura 14. Espectro no infravermelho do complexo $[\text{Cu}(\text{L}_2)(\text{dpq})](\text{ClO}_4)$ em KBr.

3.2.3 SÍNTESE DO COMPLEXO $\text{Cu}(\text{L}_1)(\text{OAc})\cdot\text{H}_2\text{O}\cdot\text{MeOH}$ (**5**)



O complexo **5** foi preparado de forma análoga aos complexos descritos previamente. A uma solução de $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ (0,100 g; 0,5 mmol) em MeOH (15 mL), foi adicionado o ligante HL_1 (0,162 g; 0,5 mmol) e, após 15 minutos, o mesmo equivalente de trietilamina (35 μL ; 0,5 mmol). O sólido verde resultante foi filtrado, lavado com éter gelado e seco em vácuo. Rendimento: 0,127 g, 57%. λ_{max} em CH_3CN / nm (ϵ / $\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$): 392 (4432), 607 (240). Condutividade molar em

CH_3CN : $3 \text{ S m}^2 \text{ mol}^{-1}$. Anal. cal. para $\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{CuN}_2\text{O}_5$: C, 58.1; H, 7.3; N, 5.6%. Encontrado: C, 58.3; H, 7.3; N, 5.8%. IV (KBr), em cm^{-1} : $\nu (\text{CH}_{\text{Ar}}$ e $\text{CH}_{\text{Alif}})$ 2956-2861; $\nu (\text{C}=\text{N}_{\text{Im}})$ 1622; $\nu (\text{C}=\text{C})$ 1392; $\nu (\text{OAc})$ 1586; $\nu (\text{CO}_{\text{fenol}})$ 1167.

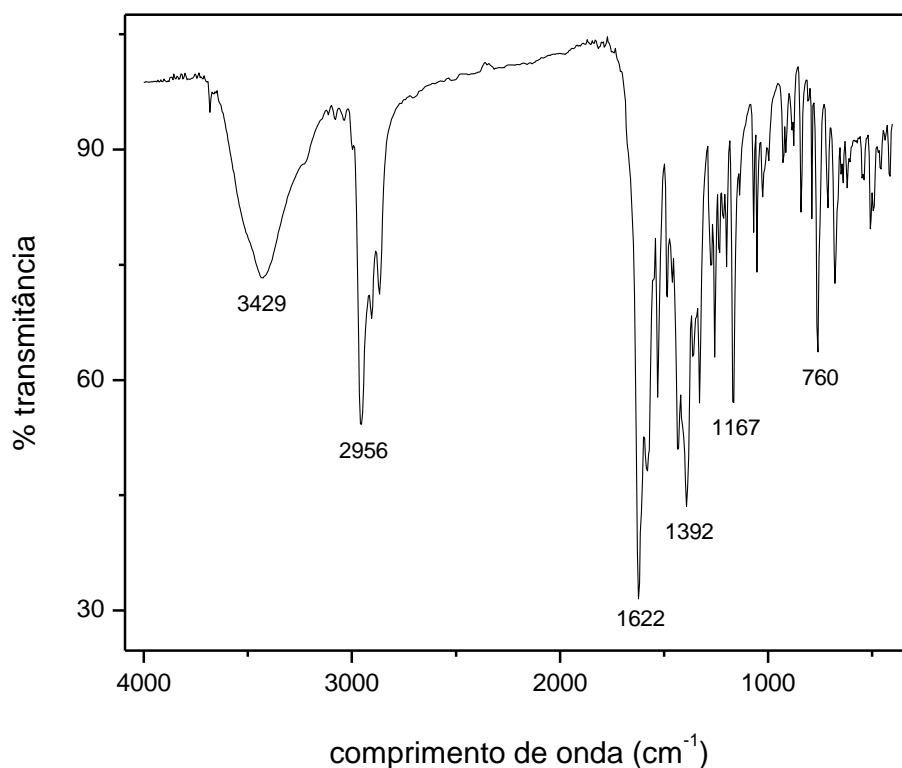


Figura 15. Espectro no infravermelho do complexo $[\text{Cu}(\text{L}_1)(\text{OAc})](\text{ClO}_4)$ em KBr.

4 Caracterização

4.1 PROPRIEDADES DOS COMPLEXOS

Os complexos (**2-4**) foram sintetizados a partir de suas respectivas bases fenantrolínicas (phen ou dpq), um outro ligante L (L_1 ou L_2) e $\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ com bons rendimentos. Esta escolha foi baseada em estudos da literatura que demonstraram o aumento da atividade de fotoclivagem dos complexos fenantrolínicos na presença de um ligante auxiliar (ROY *et al.*, 2008), com a base planar intercalando ou interagindo com o DNA e agindo também como unidade fotoativa (SANTRA *et al.*, 2002) enquanto o grupo auxiliar supostamente ajuda a manter estável o estado excitado. O grupo *terc*-butil foi escolhido como substituinte a fim de aumentar o poder sigma doador dos fenolatos, aumentando assim o potencial de redução (aumento catódico) do centro de cobre(II), e possivelmente diminuindo a toxicidade no escuro destes complexos que se origina da redução do centro metálico para cobre(I) (SASMAL *et al.*, 2007). Ainda mais, fenolatos substituídos com grupos *terc*-butil podem formar radicais fenoxil relativamente estáveis em condições brandas (ANJOS *et al.*, 2006), o que poderia aumentar a atividade dos complexos e/ou garantir a sua atividade em meio anóxico. Os complexos **1** e **5** foram sintetizados para avaliar o efeito individual aproximado de cada ligante na atividade total do complexo.

A estabilidade dos ligantes nos complexos em solução foi atestada tanto pelos estudos espectroscópicos e eletroquímicos quanto pelos valores de condutividade molar em solução, adequados a cada proporção de carga. Mesmo após algumas horas, não houve mudança aparente nas propriedades dos complexos em solução.

4.2 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO

Os complexos estudados apresentaram espectro vibracional típico, com vibrações correspondendo a cada ligante coordenado e aos contra íons. O espectro do complexo **1**, já publicado na literatura, apresenta bandas em 3406 cm^{-1} associadas à água coordenada ao centro metálico, em 1500 cm^{-1} associadas as vibrações C=N do grupo fenantrolina e uma banda forte em 1103 cm^{-1} , típica de vibração Cl-O do contra íon perclorato. Os complexos **2-4** apresentam bandas similares as do **1**, com o aparecimento de uma banda forte em $\sim 1620\text{ cm}^{-1}$ associada a ligação C=N do grupo imina. Já o complexo **5**, como era de se esperar, apresenta um espectro similar ao dos últimos, mas com ausência da vibração associada ao contra íon ClO_4^- .

4.3 ESTRUTURA DO COMPLEXO $[\text{Cu}(\text{L}_1)(\text{dpq})](\text{ClO}_4)$ (**2**)

A estrutura do complexo **2** foi obtida a partir da difração de monocristais por raios-X. O diagrama ORTEP do complexo está mostrado na Figura 16 com elipsóides mostrando a região de 50% de probabilidade. As distâncias e ângulos de ligação selecionados estão na Tabela 1.

A estrutura consiste de um complexo discreto e monomérico de cobre(II) coordenado em uma geometria de pirâmide de base quadrada. Como uma medida quantitativa da geometria, o parâmetro de trigonalidade τ foi calculado (ADDISON *et al.*, 1984) e encontrou-se um $\tau = 0,33$ ($\tau = 0,0$ para uma pirâmide de base quadrada perfeita e $\tau = 1,0$ para geometria de bipirâmide trigonal). A geometria de pirâmide fica um pouco distorcida da idealidade devido ao pequeno ângulo de mordida da base dpq.

Quanto à coordenação específica dos ligantes, os dois átomos de nitrogênio da unidade dpq estão coordenados respectivamente a base e ao topo da pirâmide, com uma ligação mais curta na base (N4-Cu1, 2.023 \AA) e uma alongada no eixo (N1-Cu1, 2.254 \AA) devido à distorção Jahn-Teller. O ligante tridentado L_1 ocupa as outras três posições vagas com um fenol desprotonado coordenado a 1.886 \AA (O20-Cu1).

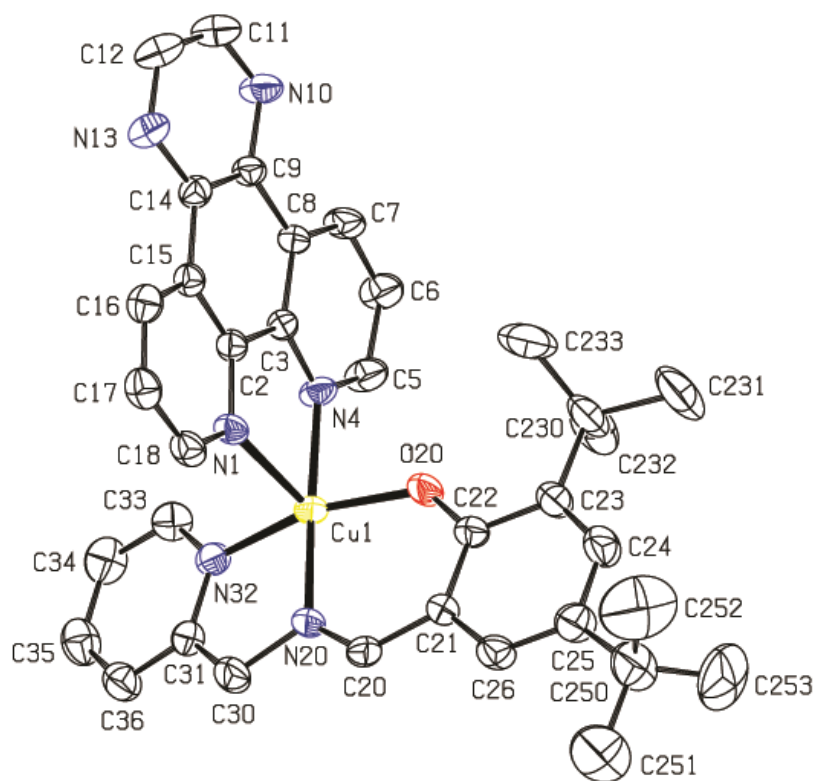


Figura 16. Diagrama ORTEP do complexo $[\text{Cu}(\text{L}_1)(\text{dpq})](\text{ClO}_4)$ (**2**) mostrando o esquema de numeração dos átomos e elipsóides térmicos com 50% de probabilidade.

Tabela 1. Distâncias de ligação (Å) e ângulos ($^\circ$) selecionados para o complexo $[\text{Cu}(\text{L}_1)(\text{dpq})](\text{ClO}_4)$ (**2**) com erros entre parêntesis.

ligação	Å	ângulo	$^\circ$
Cu1-O20	1.886(3)	O20-Cu1-N20	92.43(15)
Cu1-N20	1.930(3)	O20-Cu1-N4	85.69(15)
Cu1-N4	2.023(3)	N20-Cu1-N4	178.07(16)
Cu1-N32	2.028(4)	O20-Cu1-N32	158.41(16)
Cu1-N1	2.254(4)	N20-Cu1-N32	82.95(16)
N20-C20	1.286(6)	N4-Cu1-N32	98.65(16)
N20-C30	1.475(6)	O20-Cu1-N1	103.75(15)
		N20-Cu1-N1	103.04(15)
		N4-Cu1-N1	77.86(13)
		N32-Cu1-N1	97.83(14)

4.4 ESPECTROSCOPIA ELETRÔNICA

A espectroscopia eletrônica no caso dos complexos **1-5** é uma boa ferramenta auxiliar de caracterização, tendo em vista que os grupos dpq e os grupos fenolato têm transições muito características em regiões diferentes. É conhecido na literatura que o grupo dpq possui uma transição $\pi-\pi^*$ de alta energia em ~ 330 nm (ROY *et al.*, 2008) e que os grupos fenolato, quando ligados a centros de cobre(II), têm uma banda de transferência de carga ligante-metal ao redor de 400 nm (ANJOS *et al.*, 2006). Além disso, é fundamental que os complexos tenham absorção na região de 600-800 nm para facilitar possíveis aplicações na TFD. Os espectros eletrônicos dos complexos estão mostrados na Figura 17.

Como se pode observar, todos os complexos apresentam uma banda fraca de absorção entre 600-700 nm, atribuída à transição d-d do cobre(II) (que é um íon d^9). Apesar da distorção Jahn-Teller, nestes complexos os níveis de energia dos orbitais d aparentemente não ficaram tão separados a ponto de se distinguirem as bandas, o que se observa então é a soma de todas as transições, gerando uma banda bem alargada como na Figura 17. Em termos da caracterização em solução, a semelhança na banda da transição d-d é um forte indicativo de que todos os complexos estão coordenados seguindo a mesma geometria.

Nos espectros dos complexos **2-5** deve-se também ressaltar a banda de transferência de carga ligante-metal de forte intensidade ao redor de 400 nm. Embora varie no valor da energia da transição, a banda aponta para a similaridade entre os complexos e a coordenação do fenolato em solução (ANJOS *et al.*, 2006). Para os complexos **2** e **4** (e omitido para o **1**), há ainda uma banda estreita ao redor de 330 nm, atribuível a transições $\pi-\pi^*$ do grupo dpq, o que demonstra a presença do mesmo no complexo em solução (ROY *et al.*, 2008).

Todos os complexos apresentaram características espectroscópicas adequadas à TFD, tanto no visível através da banda de transição d-d, como no UV entre 300-400 nm através das bandas de transferências de carga.

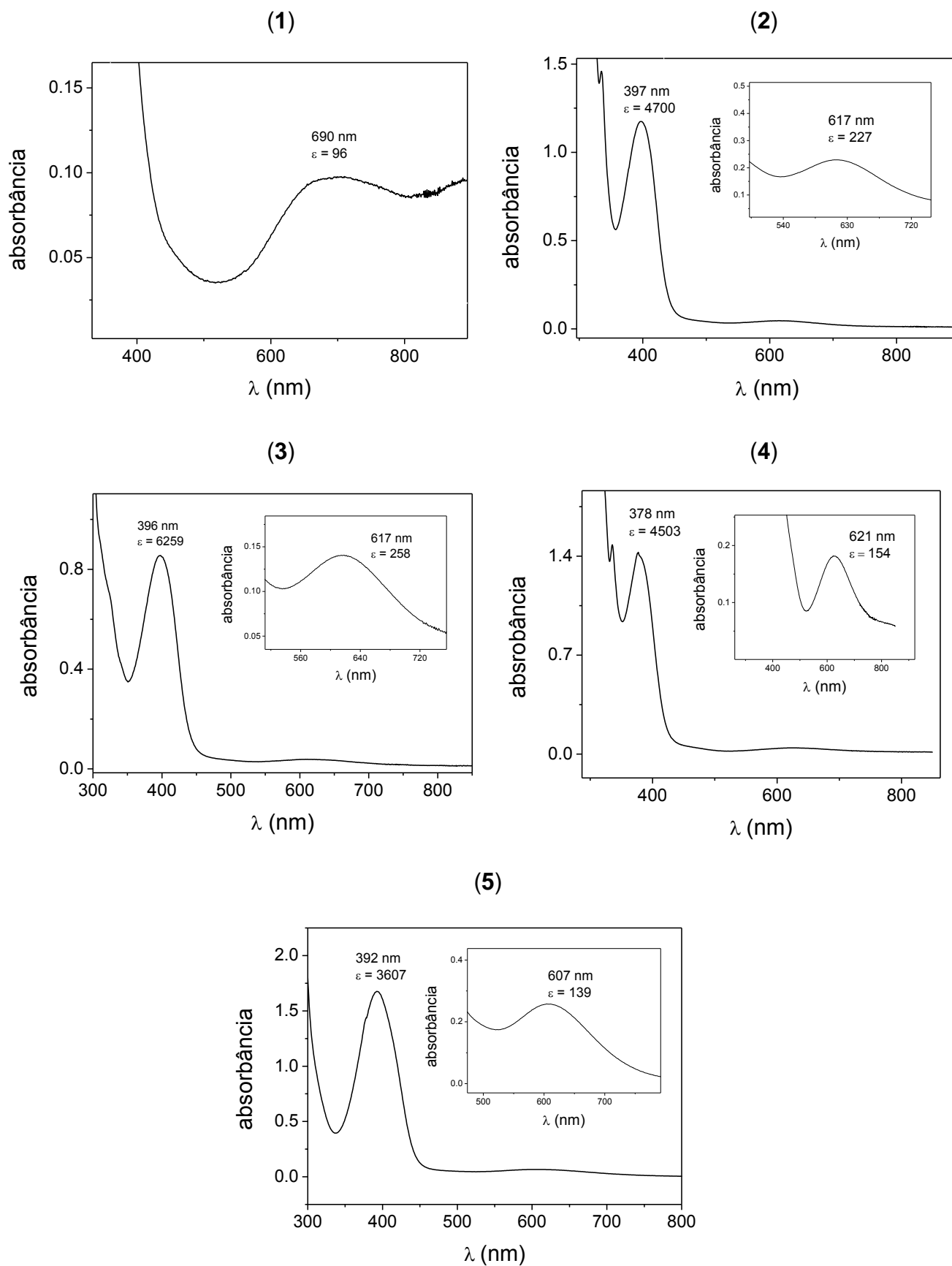


Figura 17. Espectros eletrônicos dos complexos **1-5** em CH_3CN .

4.5 ELETROQUÍMICA

As propriedades eletroquímicas dos complexos **2-5** foram estudadas por voltametria cíclica em CH₃CN (0,1 mol L⁻¹ em TBAPF₆). Os potenciais foram corrigidos através do uso do padrão interno ferrocenil/ferroceno.

Como se pode ver na Figura 18, todos os complexos apresentaram características redox comuns. Os voltamogramas dos complexos **2**, **3** e **5** possuem uma onda anódica *quasi*-reversível ao redor de 1000 mV vs NHE, típica de um par fenolato/fenoxil (HALFEN *et al.*, 1997). O complexo **4** também apresenta uma onda nesta região devido à formação de um radical, mas esta é irreversível devido à instabilidade de radicais fenoxil sem o substituinte *terc*-butil. Os complexos **2-5** ainda apresentaram uma onda catódica em ~ -600 mV, atribuível ao par Cu^{II}/Cu^I. Todos os complexos de fenantrolina e dpq apresentaram ainda reduções posteriores dos ligantes em potenciais mais negativos, como pode se observar para os complexos **2-4**, também na Figura 18 (SASMAL *et al.*, 2008, ROY *et al.*, 2008).

O potencial de redução do centro de cobre(II) nos complexos variou significativamente com a influência da capacidade sigma doadora e π aceptora dos ligantes, e ficou particularmente alto (aumento catódico) naqueles contendo o ligante *terc*-butil substituído. Devido a este efeito, era esperado que a atividade no escuro dos complexos fosse reduzida ou extinguida. Apesar de os complexos não apresentarem atividade no escuro em condições normais, têm sim uma grande atividade quando são adicionados redutores similares aos que podem ser encontrados em meios biológicos, como o ácido 3-mercaptopropanóico (AMP) (*vide infra*), o que não é desejado tendo em vista aplicações médicas. Como é mostrado na Figura 19, tanto o voltamograma (**a**) quando o espectro eletrônico (**b**) do complexo **2** mudam com a adição de apenas um equivalente de AMP. Entretanto esta atividade deve ser explicada pela formação de novas espécies com um caráter eletroquímico diferente do complexo inicial quando o AMP é adicionado à solução, e não pela redução do centro metálico, que de fato não deve acontecer.

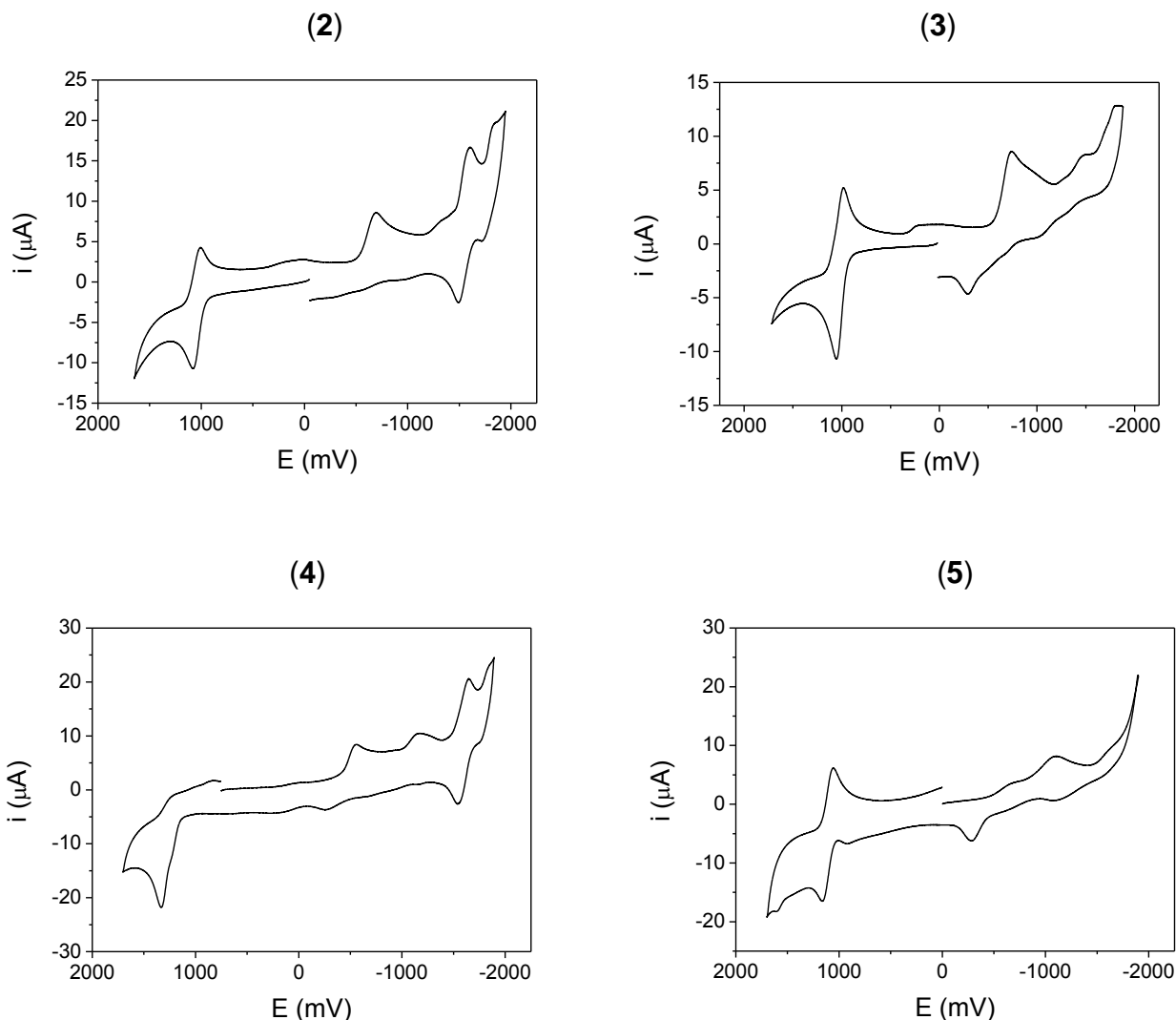


Figura 18. Gráficos de voltametria cíclica para os complexos **2-5** em CH_3CN $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em TBAPF_6 . Os potenciais estão representados versus ENH. [complexos] = $5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

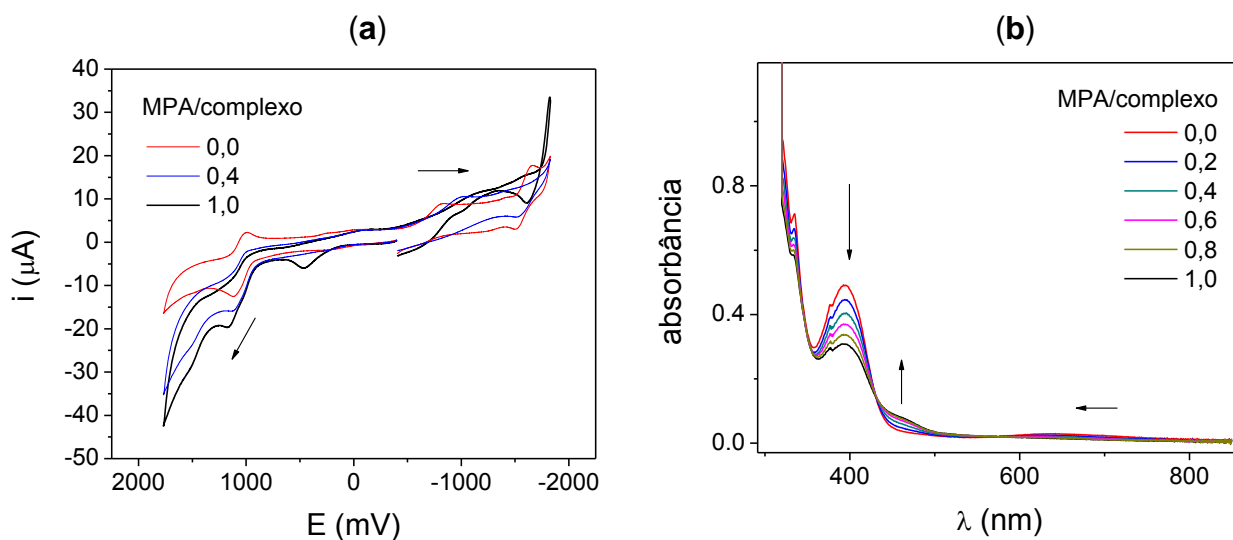


Figura 19. Voltamograma cíclico do complexo **2** em CH_3CN com adição de AMP (a). Espectro eletrônico do complexo **2** com adição de AMP (b), [complexo] = 1×10^{-4} .

5 Experimentos com DNA

5.1 INTERAÇÃO DOS COMPLEXOS COM DNA (K_b)

A interação de moléculas com as bases do DNA geralmente resulta num deslocamento hipocrômico para o vermelho das bandas de transferência de carga, devido à interação π *stacking* resultante entre os anéis da molécula ligante e os pares de base. A extensão do hipocromismo dá uma estimativa da extensão da interação, que pode ser medido através de uma constante de ligação K_b (exemplo na Figura 20).

O deslocamento hipocrômico observado variou entre 15-30% na série dos complexos como era esperado para as estruturas propostas, com um desvio batocrômico de menos de 2 nm. Como mostrado na Tabela 2, os complexos **1**, **2** e **4**, com a base dpq, tiveram a maior constante de ligação, sendo o que possui o grupo *terc*-butil o que menos interagiu, provavelmente devido a repulsão espacial do grupo substituinte volumoso (SAHA *et al.*, 2009).

Para esta série de complexos, as interações devem ser consideradas mais como interações com os sulcos do DNA do que propriamente intercalação devido ao baixo valor de K_b e o pequeno desvio para o vermelho associado ao hipocromismo. Em casos onde se sabe que há intercalação como em alguns complexos de rutênio, os desvios para o vermelho observados apresentam mudanças muito mais significativas (FRIEDMAN *et al.*, 1990, DUPUREUR; BARTON, 1994). O complexo de fenantrolina **3** e aquele sem nenhuma base heterocíclica **5** apresentaram menor interação, mas ainda suficiente para efetivar a quebra do DNA (NEVES *et al.*, 2007, RAMAKRISHNAN *et al.*, 2009).

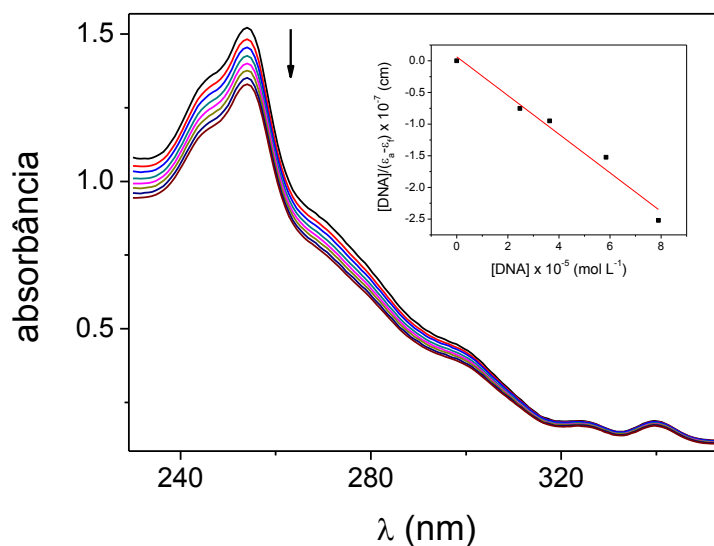


Figura 20. Titulação do complexo $[\text{Cu}(\text{L}_2)(\text{dpq})](\text{ClO}_4)$ (**4**) em tampão Tris-HCl 50 mmol L^{-1} (pH 7,2), 50 mmol L^{-1} NaCl com incremento de DNA-CT. O quadro menor mostra o ajuste de mínimos quadrados de $[\text{DNA}] / (\epsilon_a - \epsilon_f)$.

Tabela 2. Constantes de interação calculadas a partir das titulações com DNA-CT para os complexos **1-5**.

Complexo	$K_b / 10^5 \text{ mol L}^{-1}$
$[\text{Cu}(\text{dpq})_2\text{H}_2\text{O}](\text{ClO}_4)_2$ (1)	1.67 ± 0.49
$[\text{Cu}(\text{L}_1)(\text{dpq})](\text{ClO}_4)$ (2)	1.05 ± 0.62
$[\text{Cu}(\text{L}_1)(\text{phen})](\text{ClO}_4)$ (3)	0.10 ± 0.17
$[\text{Cu}(\text{L}_2)(\text{dpq})](\text{ClO}_4)$ (4)	7.67 ± 0.61
$\text{Cu}(\text{L}_1)(\text{OAc})$ (5)	0.17 ± 0.28

5.2 ATIVIDADES DE NUCLEASE E FOTONUCLEASE

A atividade de clivagem do DNA por **1-5** foi feita sob irradiação de luz UV (12 W, 365 nm), sob irradiação de laser vermelho (3 mW, 635 nm) e no escuro, na presença e ausência do agente redutor AMP.

Os complexos não foram capazes de clivar o DNA plasmidial no escuro a uma concentração de 12,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ por 15 min (Figura 21). Entretanto, na presença de AMP e sob as mesmas condições mencionadas acima, uma alta atividade de clivagem foi observada para **1-4** (Figura 22), com conversão completa do DNA superenovelado para as formas circular e linear do DNA. Nenhuma atividade foi observada para o complexo **5**. Ainda para os complexos **1-4**, a quantidade de clivagem mostrou-se proporcional à diminuição dos potenciais de redução do par $\text{Cu}^{\text{II}}/\text{Cu}^{\text{I}}$ devido aos ligantes, como esperado para um mecanismo dependente da formação de cobre(I).

Esta alta atividade como nuclease não era esperada se levado em conta os potenciais bastante negativos dos complexos **2-4** com respeito a complexos já descritos na literatura (DHAR; NETHAJI; CHAKRAVARTY, 2005). Entretanto, como sugerido acima, a atividade se dá provavelmente devido a uma mudança na estrutura dos complexos quando na presença do agente redutor AMP e à nova natureza eletroquímica das espécies formadas (LAHIRI *et al.*, 2009).

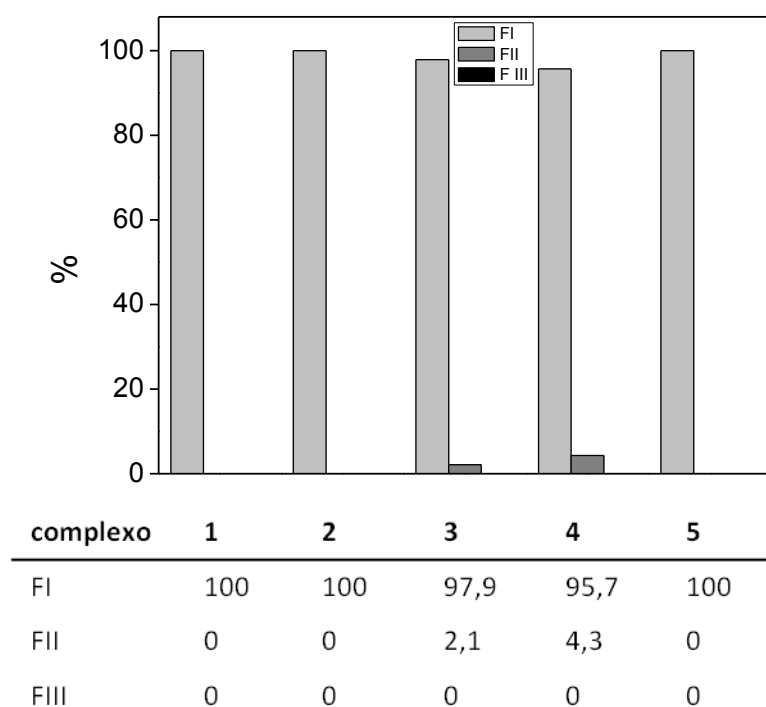


Figura 21. Clivagem do DNA plasmidial ($25 \mu\text{mol L}^{-1}$ pb) por **1-5** em tampão Tris-HCl (pH 7,2, NaCl $50 \mu\text{mol L}^{-1}$) em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (25/75 v/v) no escuro por 15 min a 37°C . [complexos] = $6,25 \mu\text{mol L}^{-1}$.

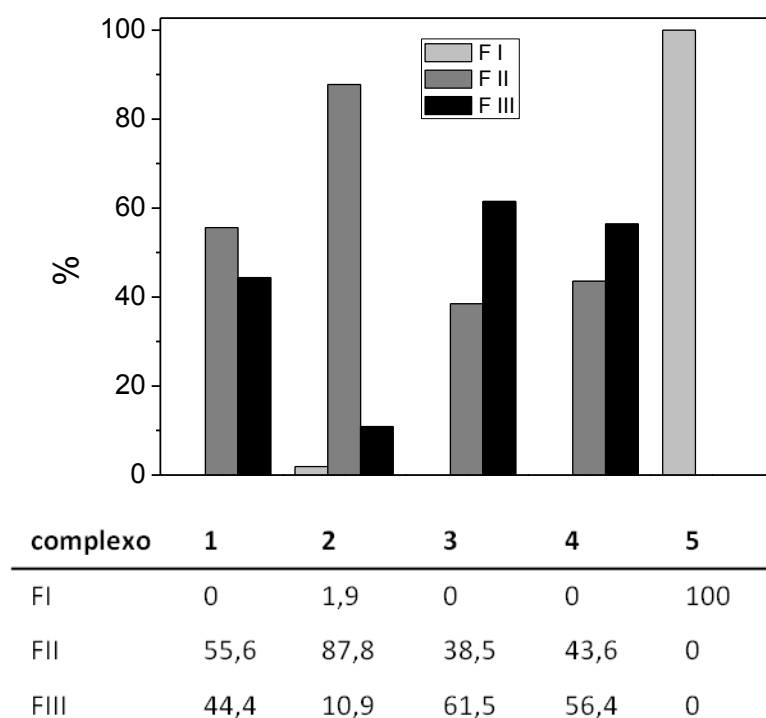


Figura 22. Clivagem do DNA plasmidial ($25 \mu\text{mol L}^{-1}$ pb) por **1-5** em tampão Tris-HCl (pH 7,2, NaCl $50 \mu\text{mol L}^{-1}$) em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (25/75 v/v) no escuro com $500 \mu\text{mol L}^{-1}$ de AMP por 15 min a 37°C . [complexos] = $6,25 \mu\text{mol L}^{-1}$.

Os resultados dos ensaios de clivagem foto-induzida do DNA plasmidial pelos complexos **1-5** sob luz UV a 37°C revelaram uma habilidade significativa de clivagem dos mesmos (Figura 23), seguindo a ordem: **1** >> **4** > **2** >> **3**. Na série análoga, apenas **2** e **4** converteram completamente o DNA superenovelado para a forma circular e linear, enquanto **3** apresentou atividade de clivagem relativamente menor, confirmando o fato que a base heterocíclica dpq têm um papel fundamental na atividade deste tipo de complexo. Nas mesmas condições, o complexo **1** apresentou a maior atividade, clivando completamente o DNA, de forma tal que não foi possível quantificá-lo, enquanto o complexo **5** não apresentou atividade perceptível.

Como a atividade do complexo **1** já foi previamente estudada (DHAR *et al.*, 2003) e o complexo **5** não revelou atividade significativa, os estudos mecanísticos apresentados na próxima seção foram realizados somente para a série **2-4**, tanto para a irradiação UV como para a irradiação com luz vermelha.

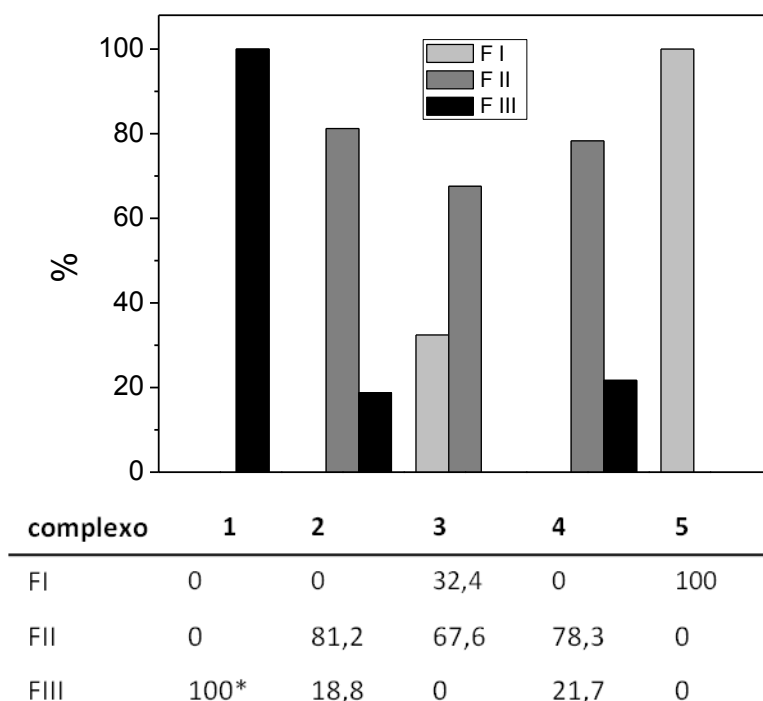


Figura 23. Fotoclivagem do DNA plasmidial por **1-5** em tampão Tris-HCl (pH 7,2, NaCl 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$) em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (25/75 v/v) a 37°C após irradiação com luz UV (12 W, 365 nm) por 15 min. [complexos **1,2,4** e **5**] = 12,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$, [complexo **3**] = 250 $\mu\text{mol L}^{-1}$. *Não pode ser observado mais nenhuma forma do DNA sob estas condições.

Sob irradiação com o laser vermelho a 50°C, a extensão da clivagem na série análoga também seguiu a ordem: **4 > 2 > 3**, com nenhuma conversão à forma linear nestas condições, mas com atividade relativa diferente da do ensaio na luz UV (neste caso **4 >> 2 ~ 1 > 3 ~ 5**). Como pode se observar na Figura 24, nestes experimentos **1** teve quase a mesma atividade de **2** e de **4**, que se mostraram muito mais ativos quando irradiados por luz vermelha. Também é importante ressaltar dos resultados, que a atividade de **3** (similar a de **5**) não foi tão diferente das dos demais como quando na irradiação por luz UV, já indicando que, diferentemente do caso anterior, o base dpq não teve contribuição significativa no processo de clivagem.

A irradiação com laser a 635 nm foi feita a temperaturas e concentrações mais altas e resultou em clivagem aparentemente menor que a sob luz de 365 nm. Porém, considerando que a potência do laser vermelho era 4000 vezes menor que a da lâmpada UV, deve-se tomar cuidado ao concluir que a atividade seja realmente menor. Sob as mesmas condições de potência irradiada, provavelmente a atividade na luz vermelha seria igual ou maior do que sob a luz ultravioleta.

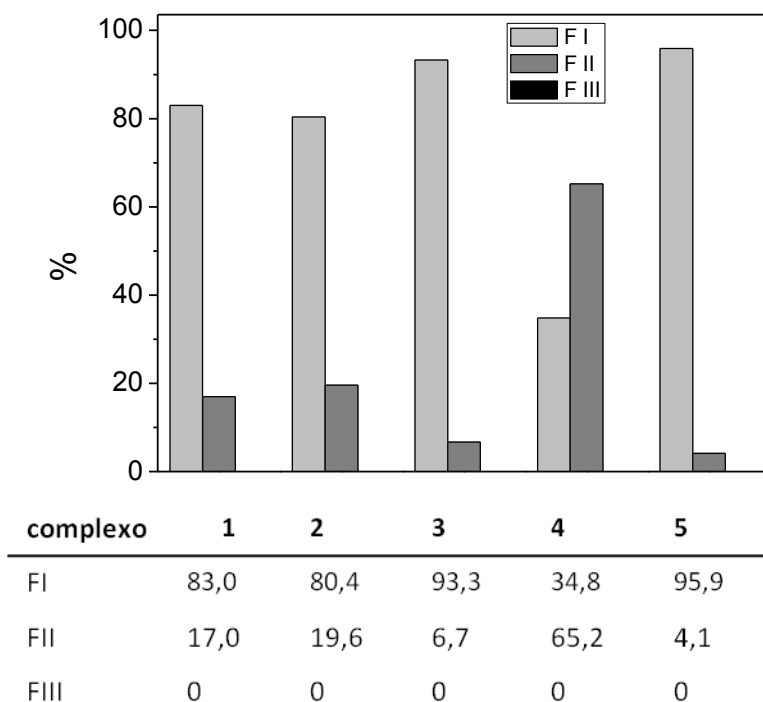


Figura 24. Fotoclivagem do DNA plasmidial por **1-5** em tampão Tris-HCl (pH 7,2, NaCl 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$) em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (25/75 v/v) a 50°C após irradiação com luz vermelha (3 mW, 635 nm) por 20 min. [complexos] = 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

5.3 ESTUDOS MECANÍSTICOS DAS REAÇÕES DE FOTOCIVAGEM

O mecanismo geral pelo qual os complexos **2-4** clivam o DNA sob exposição à luz foi estudado pela adição de reagentes com papéis específicos. Estes foram: *superoxido dismutase* (SOD, 15 unidades), DMSO (10%) e KI (500 $\mu\text{mol L}^{-1}$) como captadores de radicais hidroxila e de radicais superóxido (PERALTA, 2006), NaN_3 (500 $\mu\text{mol L}^{-1}$) como um captador de oxigênio singlete e D_2O (45% v/v), que é conhecido por aumentar o tempo de meia vida da espécie $^1\text{O}_2$ $^1\Delta_g$ (MACHADO, 2000). As mudanças no perfil de atividade dos complexos na presença dos aditivos indicam a presença ou ausência dos intermediários com os quais estes reagem, o que serve de base para a proposição dos mecanismos de fotocivagem. Um estudo similar já foi realizado para o complexo **1** (DHAR *et al.*, 2003) no qual revelou-se um mecanismo do Tipo I para a clivagem sob irradiação de luz UV, enquanto um mecanismo do Tipo II foi observado sob luz vermelha. Os detalhes mecanísticos específicos do complexo **5** foram deixados de lado.

Os três complexos estudados reagiram de forma similar aos aditivos em 365nm ou em 635 nm, mas com padrões diferentes em cada fonte de luz. Isto sugere que os três atuam pelos mesmos mecanismos em cada irradiação, entretanto com diferença nos mecanismos que dependem da fonte de luz aplicada. As clivagens de DNA observadas nos estudos mecanísticos estão apresentadas nas Figura 26 à Figura 31.

No experimento de irradiação por luz UV (365 nm) todos os complexos apresentaram alguma redução da atividade na presença dos captadores de radicais, inibição na presença de NaN_3 e aumento da atividade na presença de D_2O . É também importante notar que os complexos com a base dpq (**2** e **4**) apresentaram atividade muito maior do que aquele com fenantrolina **3**. De todos os resultados pode-se concluir que a atividade deve vir então primariamente de um mecanismo do Tipo II, envolvendo a interconversão de $^3\text{O}_2$ pelos estados excitados $^3(n-\pi)$ e $^3(\pi-\pi^*)$ do ligante dpq nos complexos, como esperado seguindo o padrão de complexos já estudados na literatura (PATRA *et al.*, 2007, SASMAL; PATRA; CHAKRAVARTY, 2008). Estes complexos também apresentaram atividades similares sob atmosfera de argônio com irradiação a 365 nm (Figura 32), o que é uma propriedade incomum

e se dá provavelmente devido à geração de radicais fenoxil quando os complexos são excitados na banda de transferência de carga, como reportado acontecer para alguns flavonóides (CREN-OLIVE *et al.*, 2002) e para o aminoácido tirosina em enzimas (LONDON; GABEL *et al.*, 2006). Entretanto é interessante que o fenol substituído com grupos *terc*-butil não promoveu nenhuma mudança significativa na atividade relativa dos complexos, com **4** sendo ainda mais efetivo que **2** sob as mesmas condições.

Um esquema geral dos mecanismos de fotoclivagem dos complexos está representado na Figura 25 abaixo:

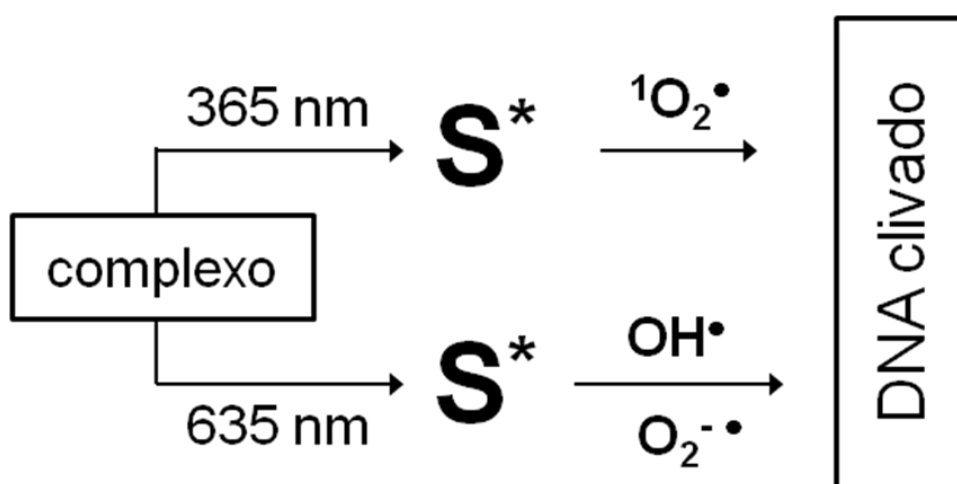


Figura 25. Esquema dos mecanismos de fotoclivagem para os complexos **1-5**.

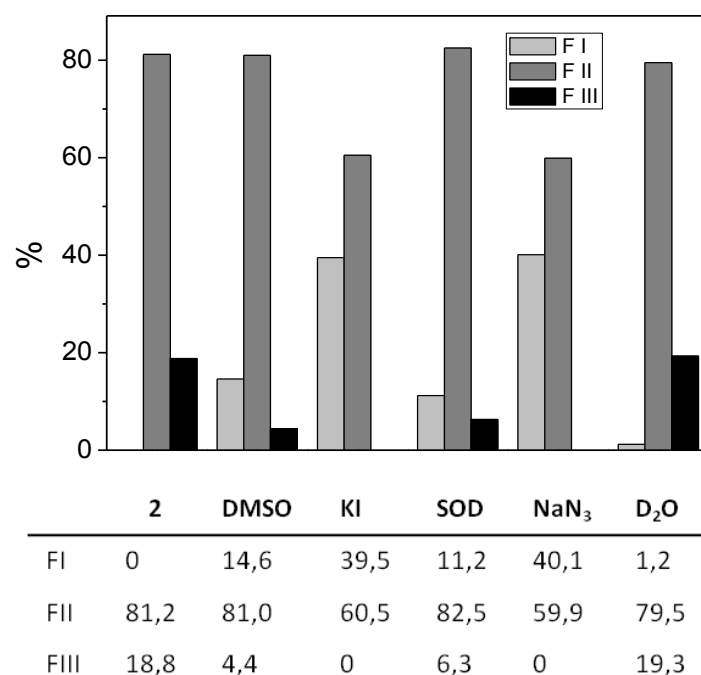


Figura 26. Fotoclivagem do DNA plasmidial por **2** em tampão Tris-HCl (pH 7,2, NaCl 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$) em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (25/75 v/v) a 37°C após irradiação com luz UV (12 W, 365 nm) por 15 min com e sem aditivos. [complexo] = 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

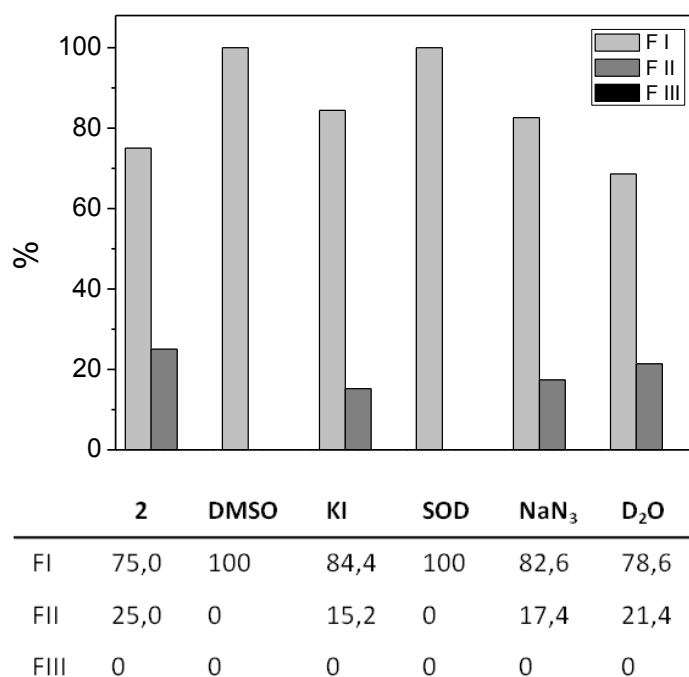


Figura 27. Fotoclivagem do DNA plasmidial por **2** em tampão Tris-HCl (pH 7,2, NaCl 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$) em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (25/75 v/v) a 50°C após irradiação com luz vermelha (3 mW, 635 nm) por 20 min com e sem aditivos. [complexo] = 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

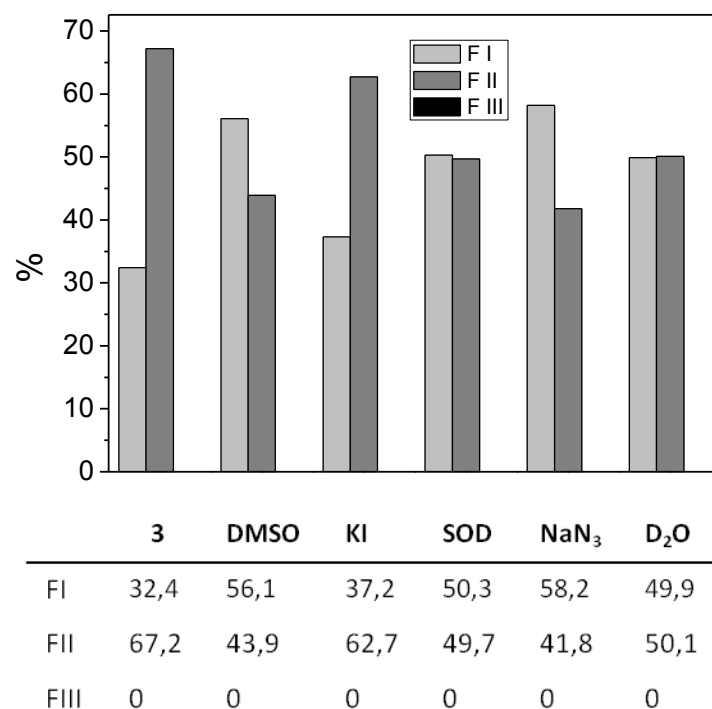


Figura 28. Fotoclivagem do DNA plasmidial por **3** em tampão Tris-HCl (pH 7,2, NaCl 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$) em CH₃CN/H₂O (25/75 v/v) a 37°C após irradiação com luz UV (12 W, 365 nm) por 15 min com e sem aditivos. [complexo] = 250 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

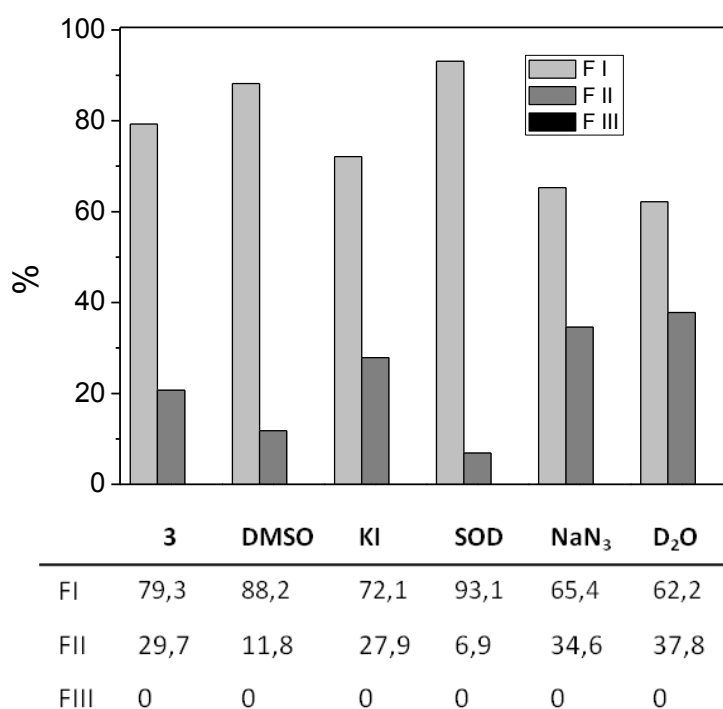


Figura 29. Fotoclivagem do DNA plasmidial por **3** em tampão Tris-HCl (pH 7,2, NaCl 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$) em CH₃CN/H₂O (25/75 v/v) a 50°C após irradiação com luz vermelha (3 mW, 635 nm) por 20 min com e sem aditivos. [complexo] = 250 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

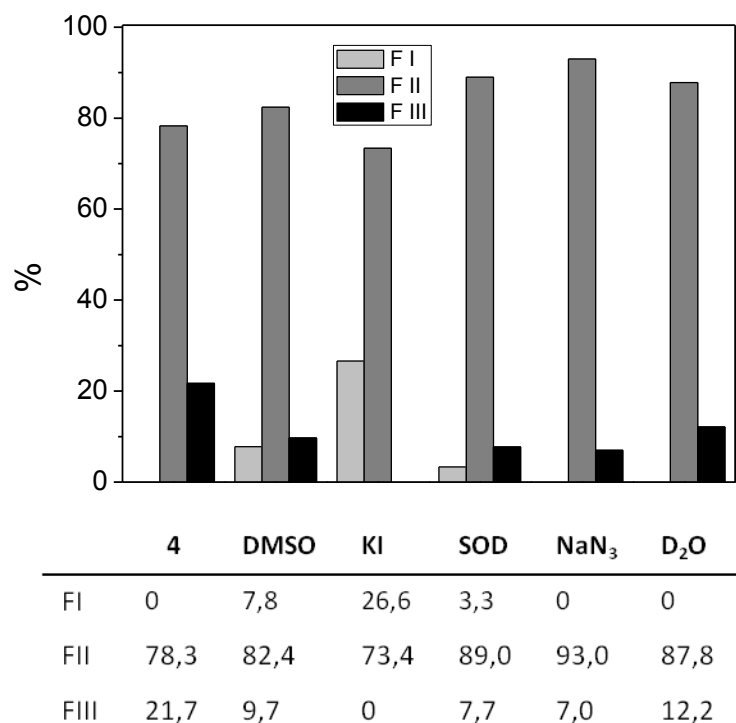


Figura 30. Fotoclivagem do DNA plasmidial por **4** em tampão Tris-HCl (pH 7,2, NaCl 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$) em CH₃CN/H₂O (25/75 v/v) a 37°C após irradiação com luz UV (12 W, 365 nm) por 15 min com e sem aditivos. [complexo] = 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

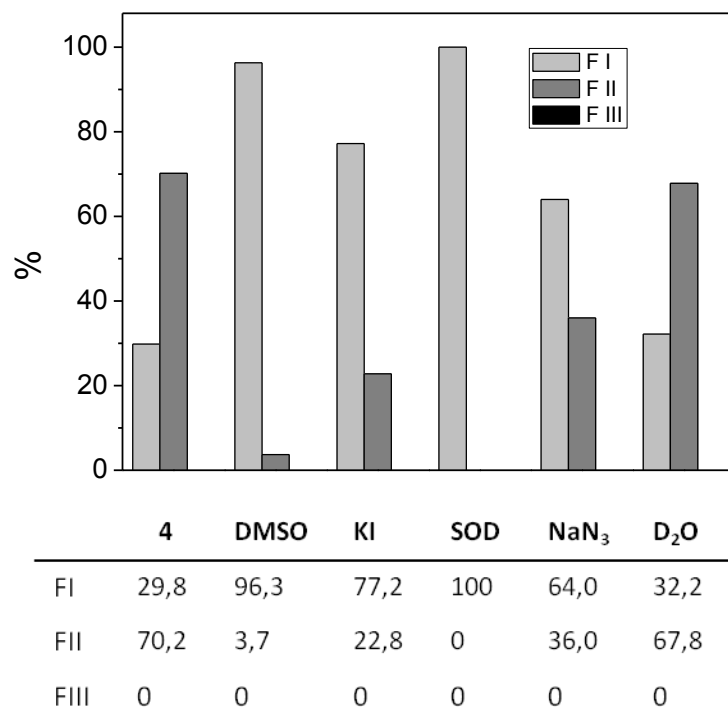


Figura 31. Fotoclivagem do DNA plasmidial por **4** em tampão Tris-HCl (pH 7,2, NaCl 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$) em CH₃CN/H₂O (25/75 v/v) a 50°C após irradiação com luz vermelha (3 mW, 635 nm) por 20 min com e sem aditivos. [complexo] = 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

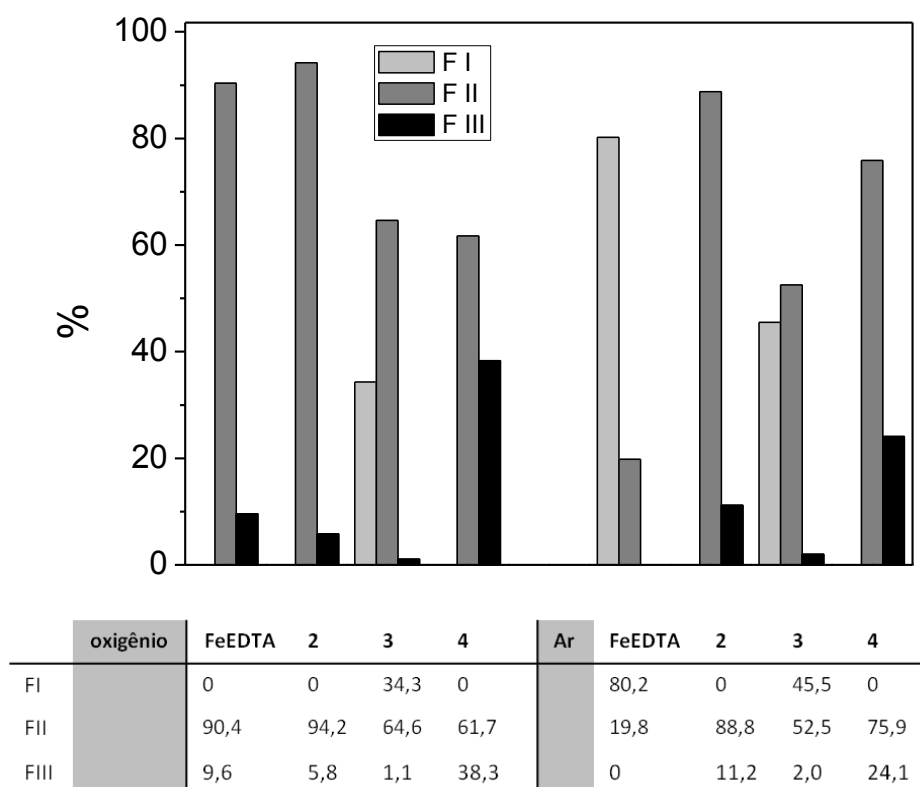


Figura 32. Atividade de fotoclivagem por irradiação de luz UV (365 nm) a 37°C em tampão Tris-HCl (pH 7,2, NaCl 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$) em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (25/75 v/v), na presença e ausência de oxigênio (atmosfera de argônio, Ar). [complexos **2** e **4**] = 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$, [complexo **3**] = 250 $\mu\text{mol L}^{-1}$. [FeEDTA] = 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$, [DTT] = 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

6 Cálculos e Correlações

Com o intuito de aprofundar mais ainda o conhecimento sobre o funcionamento dos mecanismos pelos quais são geradas as espécies ativas na fotoclivagem do DNA pelos complexos **1-5**, foram realizados também cálculos das estruturas eletrônicas dos mesmos. Alguns complexos com atividade em TFD já foram estudados teoricamente do ponto de vista da sua estrutura eletrônica (QUATAROLO *et al.*, 2009), mas muito pouco tem sido feito no sentido de elucidar os fatores específicos que influenciam na sua atividade, ou os fatores específicos que controlam a geração das espécies ativas na clivagem.

É claro que há uma grande dificuldade intrínseca no desenvolvimento de modelos teóricos para aplicação em sistemas biológicos, dada a complexidade dos mesmos e a dificuldade de controlar com precisão todas as variáveis. Mas recentemente alguns parâmetros teóricos muito específicos como a dureza/maciez, a eletronegatividade (de vários tipos) e o índice de eletrofilicidade (PARR; PEARSON, 1983; PARR *et al.*, 1978; PARTHASARATHI *et al.*, 2004) tem se mostrado úteis para obter-se boas correlações com diversos tipos de atividade biológica. Além disso, mesmo parâmetros simples como o HOMO e o LUMO de moléculas podem ser decisivos na atividade de um composto, dado que os mesmos estão fortemente envolvidos nas reações e interações mais conhecidas.

Neste trabalho foram calculadas as estruturas otimizadas dos cinco complexos estudados e suas estruturas eletrônicas no estado fundamental dubleto (por causa do elétron desemparelhado do metal d^9) e quadruplete, o qual é o primeiro estado “tripleto” excitado logo acima do estado fundamental, espécie que interconverte o 3O_2 à sua forma singleto tóxica na TFD. A partir destas estruturas e dos dados experimentais algumas correlações simples, porém elucidativas puderam ser propostas.

6.1 CÁLCULOS DAS ESTRUTURAS DOS COMPLEXOS

Todos os cálculos descritos a seguir foram realizados pelo programa gratuito ORCA (NEESE, 2007), utilizando-se o funcional de correlação e troca aqui referido como REVPBE (ZHANG; YANG, 1998) e o conjunto de funções de base do grupo do professor Alrich, sendo o TZV(P) para os átomos leves e QZVPP para o átomo de cobre(II). O conjunto de funções de base escolhido foi grande justamente pela dificuldade de se tratar uma molécula que contenha um átomo de cobre(II), ainda mais quando sofre um efeito Jahn-Teller pronunciado e possui uma geometria assimétrica como nestes casos. O funcional utilizado foi escolhido por já ser muito utilizado em sistemas de complexos metálicos e apresentar resultados coerentes. Para os cálculos de energia no ponto do estado dubleto e quadrupeto, foi utilizada a abordagem “conductor-like screening model” (COSMO, SENNECKER *et al.*, 2006) a fim de simular os efeitos de solvente, neste caso escolhido como H₂O. Os critérios de convergência do SCF tanto para a otimização das estruturas quanto para o cálculo no ponto foi estabelecido como “Tight” em todos os casos para garantir o mínimo de erro nos resultados.

Como forma de validar o método teórico utilizado em relação a alguma propriedade experimental, inicialmente calculou-se a estrutura otimizada do complexo **2** e comparou-se com a estrutura obtida por cristalografia de raios-X. De diversos conjuntos de métodos testados, o descrito acima acabou revelando-se o mais preciso. Na Tabela 3 abaixo constam algumas distâncias e ângulos importantes calculados e seu erro percentual associado. O erro médio para este conjunto de dados foi de 2,43%, o qual é bastante razoável, considerando a dificuldade envolvida no cálculo de um sistema complicado como um complexo grande de um metal d⁹.

Tabela 3. Comparação entre distâncias e ângulos obtidos por cristalografia de raios-X com as calculadas pelo método teórico.

Ligação (Å)	raios-X	cálculo	erro %	Ângulo (°)	raios-X	cálculo	erro %
Cu1-O20	1,886	1,969	4,22	O20-Cu1-N20	92,43	91,72	0,77
Cu1-N20	1,930	1,965	1,78	O20-Cu1-N4	85,69	88,74	3,44
Cu1-N4	2,023	2,106	3,94	N20-Cu1-N4	178,07	175,84	1,27
Cu1-N32	2,028	2,114	4,07	O20-Cu1-N32	158,41	157,83	0,37
Cu1-N1	2,254	2,348	4,00	N20-Cu1-N32	82,95	81,54	1,73
N20-C20	1,286	1,312	1,98	N4-Cu1-N32	98,65	96,51	2,22
N20-C30	1,475	1,465	0,68	O20-Cu1-N1	103,75	102,69	1,03
				N20-Cu1-N1	103,04	108,49	5,02
				N4-Cu1-N1	77,86	75,40	3,26
				N32-Cu1-N1	97,83	99,47	1,65

Após a otimização das estruturas, foram realizados cálculos de frequência para verificar se estas realmente representavam um mínimo de energia. Para quase todos os complexos foram encontradas uma ou duas vibrações negativas de -10 a -30 cm^{-1} que não desapareceram mesmo após tentativa exaustiva de melhoramento dos parâmetros de cálculo vibracional. Depois de observar as vibrações associadas, estas foram então desconsideradas por apresentarem energia muito baixa e serem relativas a rotações e/ou vibrações de grupos metila (o próprio autor do programa recomenda no seu manual que vibrações abaixo da casa da centena podem ser desconsideradas em alguns casos por serem devidas a erros intrínsecos do cálculo).

As figuras geradas pelo programa GaussView a partir dos dados das estruturas otimizadas dos complexos **1-5** estão na

Figura **33** abaixo. As tabelas de dados com todas as coordenadas dos átomos estão no Anexo I.

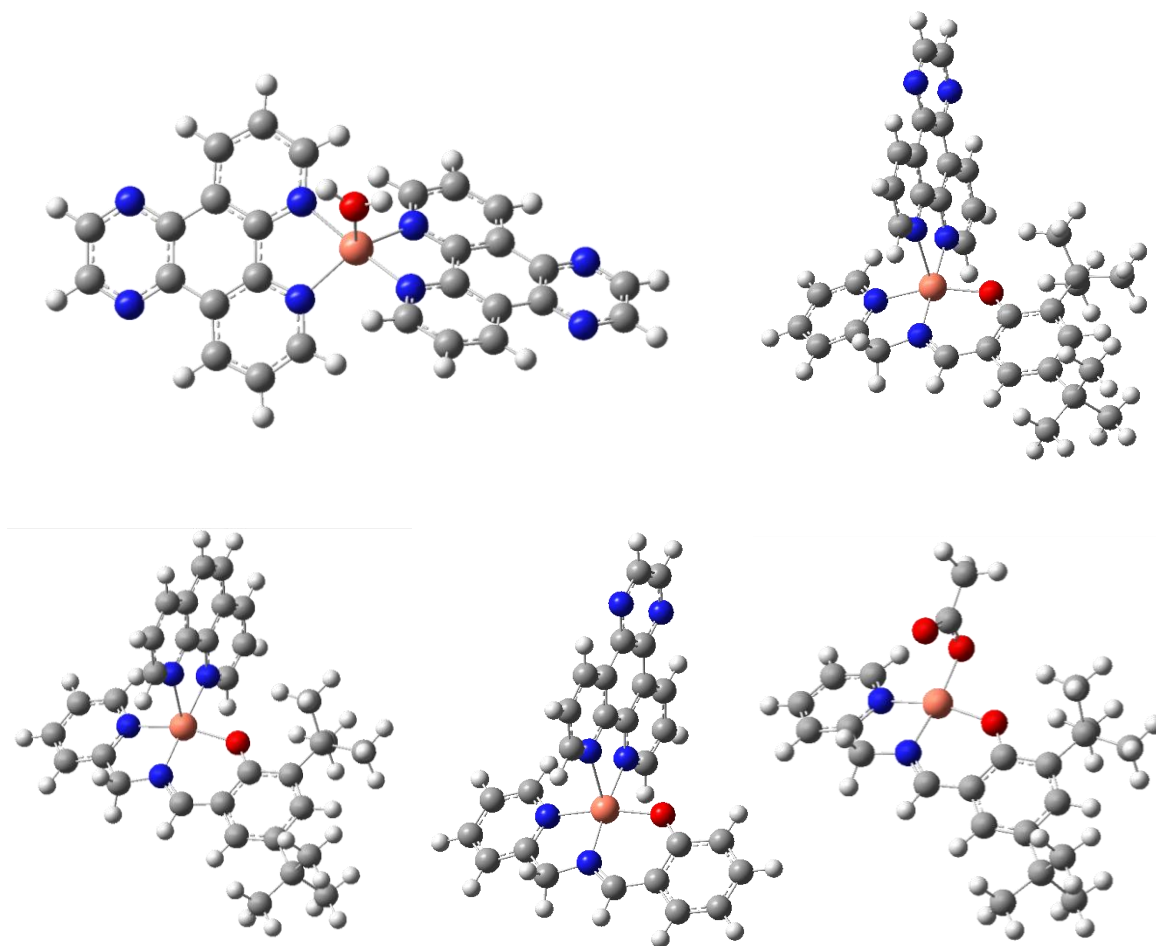


Figura 33. Figuras geradas a partir dos dados das estruturas otimizadas dos complexos 1-5.

A partir dos cálculos de frequência realizados, também foi possível construir o espectro de infravermelho simulado dos complexos, que se mostrou bastante similar ao espectro experimental em todos os casos. Por este não ser considerado como parte da estrutura do complexo durante o cálculo, a banda referente ao contra-íon perclorato não aparece no espectro simulado. Devido à forte dependência do espectro de infravermelho quanto à estrutura da molécula analisada, a similaridade dos espectros de infravermelho é uma boa confirmação das propostas de estrutura dos complexos que não foram caracterizados por cristalografia de raios-X. A Figura 34 abaixo mostra todos os espectros calculados (linha vermelha) em comparação com o obtido experimentalmente (linha preta).

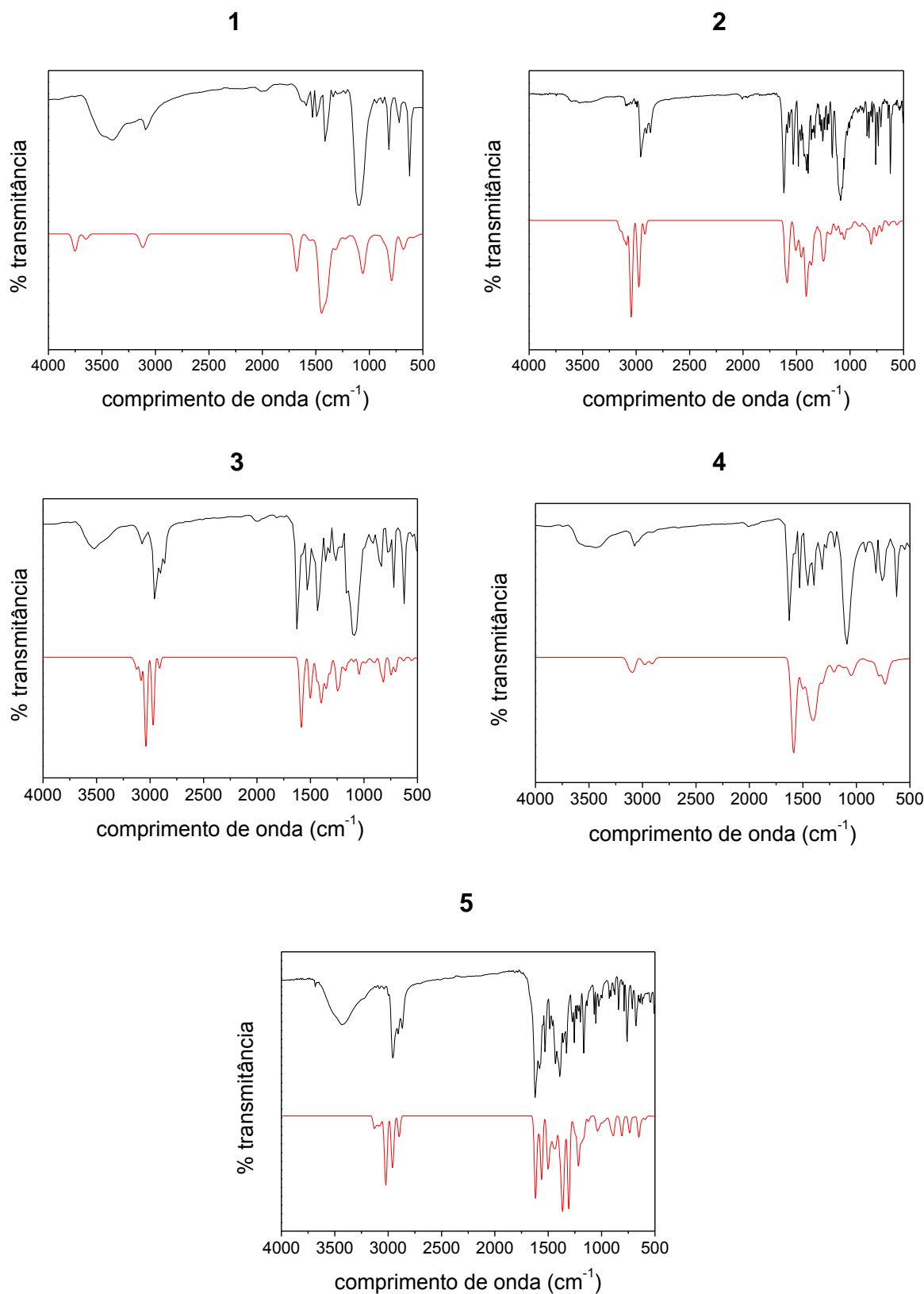
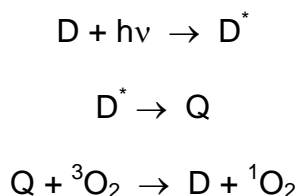


Figura 34. Infravermelhos teóricos (vermelho) e experimentais (preto) dos complexos 1-5, calculados a partir das estruturas otimizadas. A banda referente ao perclorato não aparece nos teóricos por este não ter sido considerado parte da estrutura do complexo durante o cálculo.

6.2 CORRELAÇÕES DA ESTRUTURA ELETRÔNICA DO ESTADO QUADRUPELETO COM ATIVIDADE NO UV

Tendo em vista a formação das espécies ativas na fotoclivagem do DNA, é importante notar que as atividades de **1-5** variaram consideravelmente dependendo do comprimento de onda irradiado e que o mecanismo é completamente dependente do tipo de luz: majoritariamente Tipo II para luz UV e Tipo I para luz vermelha. O complexo **1** por exemplo, foi muito mais ativo que os outros sob luz UV a 365 nm, enquanto que quando irradiado a 635 nm ele foi só o terceiro mais ativo. Quando analisando a estrutura eletrônica calculada para os estados dubleto e quadrupeto dos complexos **1-5** [que são os estados equivalentes ao “singlete” e “triplete” em moléculas orgânicas considerado o elétron desemparelhado do cobre(II)], junto com os dados experimentais, duas correlações interessante são encontradas, a começar pela atividade sob luz UV.

Os estudos mecanísticos gerais com NaN_3 e D_2O , junto com o perfil da atividade e resultados da literatura indicam que, quando irradiados por uma fonte de luz ultravioleta, o mecanismo de clivagem é basicamente via geração de oxigênio singlete. Assim, a reação de forma geral para os complexo pode ser resumida como (MACHADO, 2000; WILSON; PATTERSON, 2008):



Se este é o caso, deveria haver alguma relação geral entre a estrutura eletrônica do estado quadrupeto e a formação do oxigênio singlete, já que esta depende do tempo de vida do estado quadrupeto excitado. Como é mostrado na Figura 35, a atividade de fotoclivagem do DNA para todos os cinco complexos correlaciona relativamente bem ($R_{\text{fit}} = 0,939$), em uma grande faixa de intervalo, com a diferença de energia calculada $\alpha\text{HOMO} - \beta\text{LUMO}$ dos estados quadrupeto. Esta diferença de

energia é muito próxima da diferença $Q \rightarrow D$ e é relacionada a probabilidade de o complexo retornar ao seu estado dubleto fundamental. A assim chamada “lei do *gap* de energia” (*energy gap law*) diz que a velocidade de um decaimento não radiativo (k_{nr} , como a interconversão de Q para D) diminui com o aumento da separação entre os estado “triplete” e “singlete” de um sistema, inclusive em complexos metálicos, o que pode induzir um aumento do tempo de vida das espécies excitadas (DE ANGELIS *et al.*, 2007; KOBER *et al.*, 1986), possivelmente promovendo o aumento da formação de oxigênio singleto.

A correlação observada pode ser útil para prever novas atividades, mas é ainda uma aproximação geral levando em conta o erro das análises de DNA e mais estudos devem ser realizados para comprovar sua abrangência para outros complexos e efetividade. Mesmo assim, é interessante notar que a estrutura eletrônica calculada corresponde a proposta de um estado excitado $^3(\pi-\pi^*)$ no caso de **2** como mostrado na Figura 35.

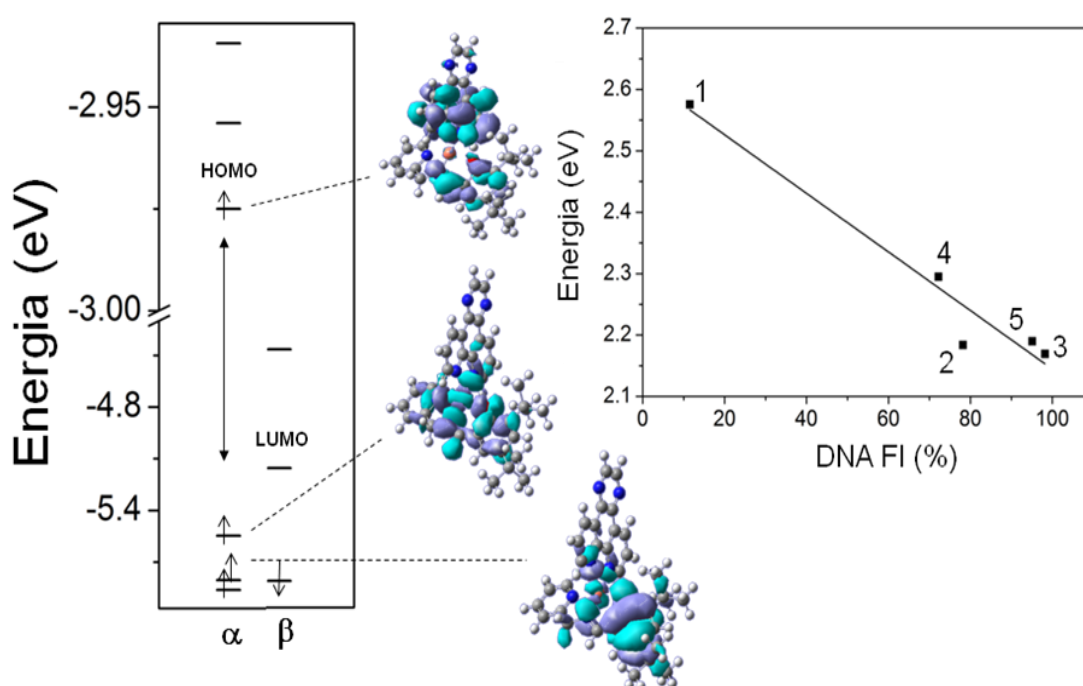


Figura 35. Diagrama de orbitais moleculares para os elétrons desemparelhados do estado excitado quadrupeto do complexo **2** e gráfico da diferença $\alpha\text{HOMO} - \beta\text{LUMO}$ versus atividade no DNA para **1-5**. A atividade foi medida sob as mesmas condições citadas anteriormente, mas com [complexo] = $5 \mu\text{mol L}^{-1}$ e 10 minutos de exposição apenas, a fim de obter-se uma atividade mensurável do complexo **1**. $R_{\text{fit}} = 0,939$.

6.3 CORRELAÇÕES DA ESTRUTURA ELETRÔNICA DO ESTADO FUNDAMENTAL COM ATIVIDADE NA LUZ VISÍVEL

Quando consideramos a atividade na presença de luz visível, onde é o estado eletrônico fundamental dubleto que deve controlar a formação das espécies ativas já que não há formação de oxigênio singleto experimentalmente, nenhuma correlação forte pode ser encontrada através dos parâmetros calculados como maciez/dureza, eletronegatividade ou índice de eletrofilicidade (PARR; PEARSON, 1983; PARR *et al.*, 1978; PARTHASARATHI *et al.*, 2004), a não ser especificamente pelo HOMO calculado do estado fundamental dos complexos **2-5**, que possuem ligante fenolato. Além disso, quando correlacionamos a atividade de fotoclivagem com o potencial de redução do par $\text{Cu}^{\text{II}}/\text{Cu}^{\text{I}}$, encontra-se uma relação linear bastante pronunciada ($R_{\text{fit}} = 0,9995$), mas novamente somente para os complexos que possuem o ligante fenolato (Figura 36). Isto já implica alguma diferença no mecanismo pelo qual estes complexos geram as espécies reativas de oxigênio que posteriormente clivam o DNA, comparando ao complexo $[\text{Cu}(\text{dpq})_2\text{H}_2\text{O}]^+$ (**1**) sozinho e de outros complexos que geram radicais hidróxido e superóxido pela redução direta do centro metálico (DHAR *et al.*, 2003).

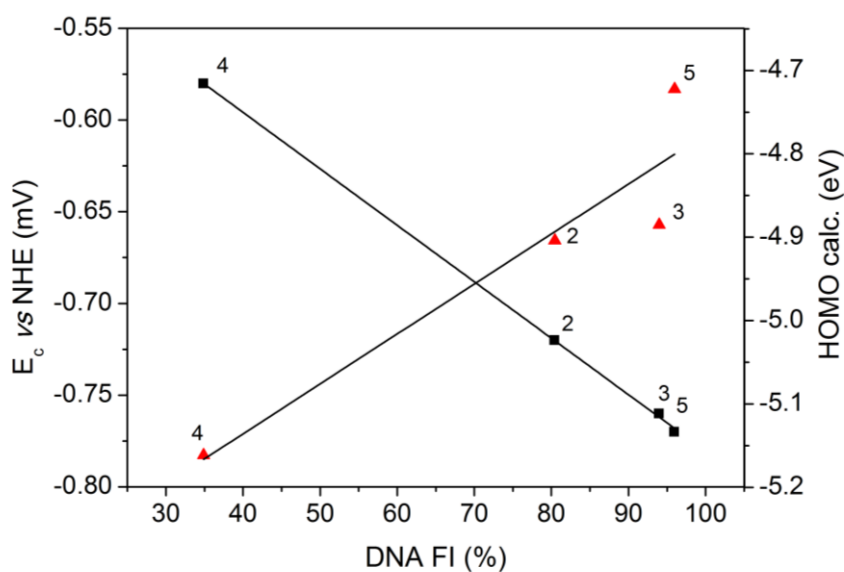
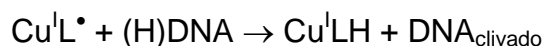
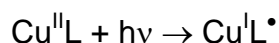


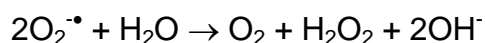
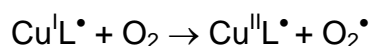
Figura 36. Gráfico do potencial de redução do cobre(II) (E_c) *versus* atividade no DNA para **2-5** e do HOMO calculado *versus* a atividade no DNA dos mesmos complexos. A atividade foi medida nas mesmas condições reportadas anteriormente, com $[\text{complexo}] = 50\mu\text{mol L}^{-1}$ e 20 minutos de exposição. $R_{\text{fit}} = 0,999$ para E_c e $R_{\text{fit}} = 0,824$ para o HOMO calculado.

Para explicar o mecanismo neste caso e a nítida relação entre os complexos **2-5**, pode-se recorrer a uma descoberta recente da literatura. Solomon e colaboradores, baseados em dados calculados e experimentais para alguns complexos metálicos, propuseram que no mecanismo de algumas reações com oxigênio molecular que geram espécies radicalares, pode haver uma transferência de carga dos orbitais mais altos do fenolato através do centro metálico para reduzir o átomo de oxigênio (GHOSH, *et al.*, 2008, PAU; LIPSCOMB; SOLOMON, 2007). Esta transferência de carga do ligante para o metal às vezes está misturada às transições d-d em complexos de cobre(II), e estas poderiam ser talvez excitadas pelo laser.

Desta forma como proposto, o mecanismo explica a diferença de atividade entre os complexos e relaciona os complexos **2-5**. Como a formação das espécies ativas de oxigênio depende da transferência de carga do ligante para o metal, a atividade no DNA se correlaciona com o potencial de redução do cobre (já que este deve se “reduzir” temporariamente) e ao HOMO que no caso dos complexos citados é centralizado principalmente ao redor do fenolato, e não do metal. A espécie transiente fenoxil-cobre(I) poderia reagir com o oxigênio molecular e gerar as espécies ativas (superóxido ou peróxido), ou atacar o DNA por abstração de próton direta (BURROWS; MULLER, 1998, CREN-OLIVE; HAPIOT; ROLANDO, 2002), como segue:



ou



Além da proposta aqui apresentada, a espécie transiente cobre(I)-tirosil já foi observada em outros casos como num passo importante na biogênese da topa quinona pela *fenilmetilamino oxidase* (RUGGIERO *et al.*, 1997). Se a produção das espécies reativas de oxigênio fosse dependente somente do potencial de redução dos complexos, o complexo **1** deveria ser certamente o mais ativo. Esta proposta de mecanismo ainda deve explicar a atividade relativamente mais alta dos complexos com fenolato em relação a **1** quando comparada à irradiação por luz UV, onde o estado quadruplete é o que tem mais importância. O fenolato deve ter então um papel fundamental em aumentar a atividade destes complexos na luz visível, muito mais do que protegendo espacialmente o complexo ou agindo como um simples fotossensibilizador como sugerido na literatura.

7

Conclusões

- Quatro novos complexos de cobre(II) foram sintetizados e caracterizados por técnicas eletroquímicas e espectroscópicas. A estrutura do complexo **2** foi resolvida por cristalografia de raios-X e todos os complexos apresentaram propriedades correspondentes às suas estruturas.
- A atividade de fotoclivagem frente ao DNA plasmidial foi avaliada para os cinco complexos estudados, quando irradiados por luz de diferentes comprimentos de onda e na presença e ausência de aditivos.
- A estrutura teórica de cada complexo foi otimizada e verificada através da comparação com a estrutura de raios-X do complexo **2** e dos espectros de infravermelho. A partir destas estruturas, os orbitais moleculares dos estados “singleto” e “triplete” de cada estrutura foram calculados.
- Novas correlações entre parâmetros teóricos e experimentais foram obtidos com bons valores de ajuste, e algumas propostas mecanísticas para a formação das espécies ativas foram propostas.

8 Bibliografia

ADDISON, A. W., RAO, T. N., REEDJIK, J., RIJN, J. V., VESCHOOR, G. C., Synthesis, structure, and spectroscopic properties of copper(II) compounds containing nitrogen–sulphur donor ligands; the crystal and molecular structure of aqua[1,7-bis(*N*-methylbenzimidazol-2'-yl)-2,6-dithiaheptane]copper(II) perchlorate. *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, v.7, p. 1349, 1984.

ALMEIDA, V. L., LEITÃO, A., REINA, L. C. B., MONTANARI, C. A., DONNICI, C. L., Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: uma introdução. *Química Nova*, v. 28, p. 118-129, 2005.

ANGELES-BOZA, A. M., BRADLEY, P. M., FU, P. K. L., WICKE, S. E., BACSA, J., DUNBAR, K. R., TURRO, C., DNA binding and photocleavage in vitro by new dirhodium(II) dppz complexes: correlation to cytotoxicity and photocytotoxicity. *Inorganic Chemistry*, v.43, p. 8510-8519, 2004.

ANJOS, A., BORTOLUZZI, A. J., CARO, M. S. B., PERALTA, R. A., FRIEDEMANN, G. R., MANGRICH A. S., NEVES, A., New Phenoxyl Radical Complexes of Manganese, Gallium, Indium and Iron Based on an H2bbpen Ligand Derivative. *J. Braz. Chem. Soc.*, v. 17, p.1540, 2006.

AUSUBEL, F. M., BRENT, R., KINGSTON R. E., MOORE, D. D., SEIDMAN J. G., SMITH, J. A., STRUHL, K., *Short Protocols in Molecular Biology: A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology*, Wiley: Nova lork, 1999.

BURROWS, C. J., MULLER, J. G., Oxidative Nucleobase Modifications Leading to Strand Scission. *Chem. Rev.*, v.98, p. 1109, 1998.

CHE, G., LI, W., KONG, Z., SU, Z., CHU, B., LI, B., ZHANG, Z., HU, Z., CHI, H., Hydrothermal Syntheses of Some Derivatives of Tetraazatriphenylene. *Synthetic Communications*, v. 36, p. 2519, 2006.

CREN-OLIVE, C., HAPIOT, P., PINSON, J., ROLANDO, C., Free Radical Chemistry of Flavan-3-ols: Determination of Thermodynamic Parameters and of Kinetic Reactivity from Short (ns) to Long (ms) Time Scale. *Journal of the American Chemical Society.*, v. 124, p. 14027, 2002.

DE ANGELIS, F., FANTACCI, S., EVAN, N. KLEIN, C., ZAKEERUNDDIN, S. M., MOSER, J. –E., KALYANASUNDARAM, K., BLINK, H. J., GRATZEL, M., NAZEERUNDDIN, M. K., Synthesis, structure, and spectroscopic properties of copper(II) compounds containing nitrogen–sulphur donor ligands; the crystal and molecular structure of aqua[1,7-bis(*N*-methylbenzimidazol-2'-yl)-2,6-dithiaheptane]copper(II) perchlorate. *Inorganic Chemistry.*, 2007, v. 46, p. 5989.

DHAR, S., NETHAJI, M., CHAKRAVARTY, A. R., DNA cleavage on photoexposure at the d-d band in ternary copper(II) complexes using red-light laser. *Inorganic Chemistry*, v. 45, p. 11043-11050, 2006.

DHAR, S., NETHAJI, M., CHAKRAVARTY, A. R., Steric protection of a photosensitizer in a N,N-bis[2-(2-pyridyl)ethyl]-2-phenylethylamine-copper(II) bowl that enhances red light-induced DNA cleavage activity. *Inorganic Chemistry*, v.44, p. 8876-8883, 2005.

DHAR, S., SENAPATI, D., DAS, P. K., CHATTOPADHYAY, P., NETHAJI, M., CHAKRAVARTY, A. R., Ternary copper complexes for photocleavage of DNA by red light: direct evidence for sulfur-to-copper charge transfer and d-d band involvement. *Journal of the American Chemical Society*, v. 125, p. 12118-12124, 2003.

DHAR, S., SENAPATI, D., REDDY, P. A. N., DAS, P. K., CHAKRAVARTY, A. R., Metal-assisted red light-induced efficient DNA cleavage by dipyridoquinoxaline-copper(II) complex. *Chemical Communications*, p. 2452-2453, 2003.

DUPUREUR, C. M., BARTON, J. K., Use of Selective Deuteration and ^1H NMR in Demonstrating Major Groove Binding of DELTA – $[\text{Ru}(\text{phen})_2\text{dppz}]^{2+}$ to $d(\text{GTCGAC})_2$. *Journal of the American Chemical Society*, v. 116, p. 10286, 1994.

FARRUGIA, L. J. ORTEP3 for Windows. *Journal of Applied Crystallography*, v. 30, p. 565. 1997.

FINNEY, N. S., MITCHELL, J. M., New Molybdenum Catalysts for Alkyl Olefin Epoxidation. Their Implication for the Mechanism of Oxygen Atom Transfer. *Journal of the American Chemical Society*, v. 123, p. 862, 2002.

FRIEDMAN, A. E., CHAMBRON, J. C., SAUYAGE, J. P., TURRO, N. J., BARTON, J. K., A molecular light switch for DNA: $\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})^{2+}$. *Journal of the American Chemical Society*, v. 112, p. 4960, 1990.

GHOSH, S., CIRERA, J., VALENCE, M. A., ONO, T., FUJISAWA, K., SOLOMON, E. I., Spectroscopic and Electronic Structure Studies of Phenolate $\text{Cu}(\text{II})$ Complexes: Phenolate Ring Orientation and Activation Related to Cofactor Biogenesis. *Journal of the American Chemical Society*, v.130, p. 16262, 2008.

HALFEN, J. A., JAZDZEWSKI, B. A., MAHAPATRA, S., BERREAU, L. M., WILKINSON, E. C., QUE JR. L., TOLMAN, W. B., Synthetic Models of the Inactive Copper(II) – Tyrosyl Radical Forms of Galactose and Glyoxal Oxidases. *Journal of the American Chemical Society*, v. 119, p. 8217, 1997.

HERGUETA-BRAVO, A., JIMNEZ-HERNNDEZ, M. E., MONTERO, F., OLIVEROS, E., ORELLANA, G., Singlet oxygen-mediated DNA photocleavage with $\text{Ru}(\text{II})$ polypyridyl complexes. The *Journal of Physical Chemistry B*, v. 106, p. 4010-4017, 2002.

IMBERT, C., HRAYCHIAN, H. P., LANZMASTER, M., HEEG, M. J., HRYHORCZUK, B. R., MCGARVEY, B. R., SCHLEGEL, H. B., VERANI, C. N.,

Influence of Ligand Rigidity and Ring Substitution on the Structural and Electronic Behavior of Trivalent Iron and Gallium Complexes with Asymmetric Tridentate Ligands. *Inorganic Chemistry*, v. 44, p. 7414, 2005.

KALSBECK, W. A., GINGELL, D. M., MALINSKY, J. E., THORP, H. H., Understanding the interactions of $[\text{Pt}_2(\text{pop})_4]^{4-}$ with nucleic acids: photocatalytic hydrogen abstraction in aqueous solution ($\text{pop} = (\text{P}_2\text{O}_5\text{H}_2)^{2-}$). *Inorganic Chemistry*, v. 33, p. 3313-3316, 1994.

KOBER, E. M., CASPAR, J. V., LUMPKIN, R. S., MEYER, T. J., Application of the energy gap law to excited-state decay of osmium(II)-polypyridine complexes: calculation of relative nonradiative decay rates from emission spectral profiles. *J. Phys. Chem.*, v. 90, p. 3722, 1986.

LAHIRI, D., BHOWMICK, T., PATHAK, B., SHAMEEMA, O., PATRA, A. K., RAMAKUMAR, S., CHAKRAVARTY, A. R., Anaerobic photocleavage of DNA in red light by dicopper(II) complexes of 3,3'-dithiodipropionic acid. *Inorganic Chemistry*, 2009.

LONDON, R. E., GABEL, S. A., Photoactivated H/D Exchange in Tyrosine: Involvement of a Radical Anion Intermediate. *Journal of the American Chemical Society*, v. 128, p. 2268, 2006.

MACHADO, A. E. H., Terapia fotodinâmica: princípios, potencial de aplicação e perspectivas. *Química Nova*, v. 23, p.2, 2000.

MAURER, T. D., KRAFT, B. J., LATO, S. M., ELLINGTON, A. D., ZALESKI, J. M., Photoactivated DNA cleavage via charge transfer promoted N_2 release from tris[3-hydroxy-1,2,3-benzotriazine-4(3H)-one]iron(III). *Chemical Communications*, p. 69-70, 2000.

MIAO, R., MONGELLI, M. T., ZIGLER, D. F., WINKEL, B. S. J., BREWER, K. J., A multifunctional tetrametallic Ru-Pt supramolecular complex exhibiting both DNA binding and photocleavage. *Inorganic Chemistry*, v. 45, p. 10413-10415, 2006.

MITTON, D., ACKROYD, R., A brief overview of photodynamic therapy in Europe. *Photodiagnosis and photodynamic therapy*, v. 5, p. 103-111, 2008.

NEESE, F., ORCA – An ab initio, density functional and semiempirical electronic structure package, Version 2.6, Revision 71, Max Planck Institut Für Physikalische und Theoretische Chemie, Alemanha, 2007.

NEVES, A., LANZMASTER, M., BORTOLUZZI, A., PERALTA, R. A., CASELLATO, A., CATELANO, E. E., HARRALD, P., RILEY, M., SCHENK, G., An Unprecedented $\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Zn}^{\text{II}}$ Complex that Mimics the Structural and Functional Properties of Purple Acid Phosphatases. *Journal of the American Chemical Society*, v. 129, p. 7486, 2007.

OLIVEIRA, M. C. B., COUTO, M. S. R., SEVERINO, P. C., FOPPA, T., MARTINS, G. T. S., SZPOGANICZ B., PERALTA, R. A., NEVES, A., TERENCEZ, H., Nucleic acid cleavage by a Cu(II) polyaza macrocyclic complex. *Polyhedron*, v. 24, p. 495, 2005.

PARR, R. G., DONNELLY, R. A., LEVY, M., PALKE, W. E., Electronegativity: The density functional viewpoint. *J. Chem. Phys.*, v. 68(8), p. 3801, 1978.

PARR, R. G., PEARSON, R. G., Absolute hardness: companion parameter to absolute electronegativity. *Journal of the American Chemical Society*, v. 105, p. 7512, 1983.

PARR, R. G., YANG, W., Density-Functional Theory of Atoms and Molecule, Oxford University Press, Oxford, 1989.

PARTHASARATHI, R., AMUTHA, R., SUBRAMANIAN, V., NAIR, B. U., RAMASANI, T., Bader's and Reactivity Descriptors' Analysis of DNA Base Pairs. *J. Phys. Chem.A.*, v. 108, p. 3817, 2004.

PATRA, A. K., BHOWMICK, T., RAMAKUMAR, S., CHAKRAVARTY, A. R., Metal-based netropsin mimics showing AT-selective DNA binding and DNA cleavage activity at red light. *Inorganic Chemistry*, v. 46, p. 9030-9032, 2007.

PATRA, A. K., NETHAJI, M., CHAKRAVARTY, A. R., Red-light photosensitized cleavage of DNA by (L-lysine)(phenanthroline base)copper(II) complexes. *Dalton Transactions*, p. 2798-2804, 2005.

PAU, M. Y. M., LIPSCOMB, J. D., SOLOMON, E. I., Substrate activation for O₂ reactions by oxidized metal centers in biology. *P. Nac. Acad. Sci.*, v. 104, p. 18355, 2007.

PERALTA, R. A., NEVES, A., BORTOLUZZI, A. J., DOS ANJOS, A., XAVIER, F. R., SZPOGANICZ, B., TERENCE, H., OLIVEIRA, M. C. B., CASTELLANO, E., FRIEDERMANN G. R., MANGRICH, A. S., NOVAK, M. A. J., New unsymmetric dinuclear Cu^{II}Cu^{II} complexes and their relevance to copper(II) containing metalloenzymes and DNA cleavage. *J. Inorg. Biochem.*, v. 100, p. 992, 2006.

RAMAKRISHNAN S., RAJENDIRAN, V., PALANIANDAVAR, M., PERIASAMY, V. S., SRINAG, B. S., KRISHNAMURTHY, H., AKBARSHA, M. A., Induction of cell death by ternary copper(II) complexes of L-tyrosine and diimines: role of coligands on DNA binding and cleavage and anticancer activity. *Inorganic Chemistry*, 2009.

RAMAKRISHNAN, S., RAJENDIRAN, V., PALANIANDAVAR, M., PERIASAMY, V. S., SRINAG, B. S., KRISHNAMURTHY, H., AKRARSHA, M. A., Induction of Cell Death by Ternary Copper(II) Complexes of L-Tyrosine and Diimines: Role of Coligands on DNA Binding and Cleavage and Anticancer Activity. *Inorganic Chemistry*, v. 48, p. 1309, 2009.

ROY, M., SAHA, S., PATRA, A. K., NETHAJI, M., CHAKRAVARTY, A. R., Ternary iron(III) complex showing photocleavage of DNA in the photodynamic therapy window. *Inorganic Chemistry*, v. 46, p. 4368-4370, 2007.

ROY, M., SAHA, S., PATRA, A. K., NETHAJI, M., CHAKRAVARTY, A. R., Ternary iron(III) complex showing photocleavage of DNA in the photodynamic therapy window. *Inorganic Chemistry*, v. 46, p. 4368-4370, 2007.

ROY, S., PATRA, A. K., DHAR, D., CHAKRAVARTY, A. R., Photosensitizer in a molecular bowl and its effect on the DNA-binding and –cleavage activity of 3d-metal scorpionates. *Inorganic Chemistry*, v. 47, p. 5625-5633, 2008.

SAHA, S., MAJUMDAR, R., ROY, M., DIGHEM R. R., CHAKRAVARTY, A. R., An Iron Complex of Dipyrrophenazine as a Potent Phototoxic Agent in Visible Light. *Inorganic Chemistry*, v. 48, p. 2652, 2009.

SANTRA, B. K., REDDY P. A. N., NEELAKANTA, G., MAHADEVAN, S., NETHAJI M., CHAKRAVARTY, A. R., Oxidative cleavage of DNA by a dipyrrodoquinoxaline copper(II) complex in the presence of ascorbic acid. *Journal of Inorganic Biochemistry*, v. 89, p. 191, 2002.

SANTRA, B. K., REDDY, P. A. N., NEELAKANTA, G., MAHADEVAN, S., NETHAJI, M., CHAKRAVARTY, A. R., Oxidative cleavage of DNA by a dipyrrodoquinoxaline copper(II) complex in the presence of ascorbic acid. *Journal of Inorganic Biochemistry*, v. 89, p. 191-196, 2002.

SASMAL, P. K. PATRA, A. K., NETHAJI, M., CHAKRAVARTY, A. R., DNA cleavage by new oxovanadium(IV) complexes of N-salicylidene alfa-amino acids and phenanthroline bases in the photodynamic therapy window. *Inorganic Chemistry*, v. 46, p. 11112-11121, 2007.

SASMAL, P. K., PATRA, A. K., CHAKRAVARTY, A. R., Synthesis, structure, DNA binding and DNA cleavage activity of oxovanadium(IV) N-salicylidene-S-methyldithiocarbamate complexes of phenanthroline bases. *Journal of Inorganic Biochemistry*, v. 102, p. 1463-1472, 2008.

SENNECKER, S., REJENDRAN, A., KLAMT, A., DEIDENHOFEN, M., NEESE, F., Calculation of Solvent Shifts on Electronic g- Tensors with the Conductor-Like Screening Model (COSMO) and its Self-Consistent Generalization to Real Solvents (Direct COSMO-RS). *Journal of Physical Chemistry A*, v. 110, p. 2235, 2006.

SHELDRICK, G. M., SHELXS-97: program for the solution of crystal structures. Universidade de Göttingen, Alemanha, 1997.

SHELDRICK, G. M., SHELXS-97: programa para o refinamento de estruturas. Universidade de Göttingen, Alemanha, 1997.

SIMPLÍCIO, F. I., MAIONCHI, F., HIOKA, N., Terapia fotodinâmica: aspectos farmacológicos, aplicações e avanços recentes no desenvolvimento de medicamentos. *Química Nova*, v. 25, p. 801-807, 2002.

SZACIOWSKI, K., MACYK, W., MATUSZEK-DRZEWIECKA, A., BRINDELL, M., STOCHEL, G., Bioinorganic photochemistry: frontiers and mechanisms. *Chemical Reviews*, v. 105, p. 2647-2694, 2005.

WILSON, B. C., PATTERSON M. S., The physics, biophysics and technology of photodynamic therapy. *Physics in Medicine and Biology*, v. 53, R61-R109, 2008.

WOLF, A., SHIMER JR., G. H., MEEHAN, T., Polycyclic aromatic hydrocarbons physically intercalate into duplex regions of denaturated DNA. *Biochemistry*, v. 26, p. 6392, 1987.

ZHANG, Y., YANG, W., Comment on "Generalized Gradient Approximation Made Simple". *Physical Review Letters*, v. 80, p. 890, 1998.

RUGGIERO, C. E., SMITH, J. A., TANIZAWA, K., DOOLEY, D. M., Mechanistic Studies of Topa Quinone Biogenesis in Phenylethylamine Oxidase. *Biochemistry*, v. 36, p. 1953, 1997.

QUATAROLO, A. D., LANZO, I., SICILIA, E., RUSSO, N., Can phtalocyanines and their substituted α -para-(methoxy)phenyl derivatives act as photosensitizers in photodynamic therapy? A TD-DFT study. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, v. 11, p. 4586, 2009.

Anexo I – tabelas com coordenadas das estruturas otimizadas

Tabela 4. Coordenadas cartesianas calculadas para o complexo $\text{Cu}(\text{dpq})_2(\text{H}_2\text{O})^{2+}$ (1).

	x	y	z
Cu	0.06133535	0.73249614	-0.00936802
C	4.05167154	1.44357331	2.60921162
N	-1.33506710	-0.05178529	1.33116865
C	-2.55181017	-0.23976333	0.73361165
C	-2.67624250	0.18992171	-0.64257835
N	-1.55256107	0.69363654	-1.23778951
C	-1.62705229	1.14235027	-2.50361218
C	-2.81966223	1.08748518	-3.24655375
C	-3.96334497	0.54707349	-2.66535944
C	-3.90895296	0.07927816	-1.33210688
C	-5.06358279	-0.48247947	-0.62983258
N	-6.23929875	-0.57734243	-1.29989587
C	-7.25608955	-1.12647231	-0.63659600
C	-7.12327241	-1.59306059	0.69724712
N	-5.97419047	-1.50998982	1.36677540
C	-4.92763663	-0.95716046	0.70360042
C	-3.65604381	-0.80877334	1.41346101
C	-3.46143570	-1.22651062	2.75048818
C	-2.21239483	-1.05892654	3.33823900
C	-1.17317273	-0.46494571	2.59886303
C	4.06371667	0.75170528	1.37599367
C	5.28060738	0.20665271	0.77256015
N	6.45140252	0.35175893	1.44210908
C	7.52926937	-0.18746263	0.87385579
C	7.46394720	-0.88091502	-0.36295580
N	6.32086507	-1.03477753	-1.03041659
C	5.21300975	-0.49565122	-0.46265385
C	3.94123330	-0.60732191	-1.17964986
C	3.80944224	-1.26175859	-2.42655868
C	2.55641243	-1.33322027	-3.02587414
C	1.44968848	-0.74163080	-2.38988881
N	1.55042213	-0.10630271	-1.21045539
C	2.77366456	-0.05637378	-0.59798670
C	2.83464324	0.60980481	0.68550415
C	1.66755446	1.75006748	2.36181649
C	2.85012644	1.95101513	3.09563240
O	-0.09080470	3.15469917	-0.18243968

H	4.98761675	1.57063723	3.15550934
H	-0.71449565	1.56338380	-2.92991102
H	-2.83050455	1.46629777	-4.26933325
H	-4.90403479	0.47826881	-3.21435649
H	-8.21099096	-1.20536946	-1.16440268
H	-7.97337926	-2.04047943	1.22006101
H	-4.29423051	-1.67423109	3.29503433
H	-2.02416383	-1.37653396	4.36467670
H	-0.18595606	-0.32338075	3.04162245
H	8.48042737	-0.07415678	1.40185668
H	8.36347285	-1.31466891	-0.80855902
H	4.69244803	-1.69977818	-2.89383172
H	2.41659216	-1.83609530	-3.98364368
H	0.45826168	-0.78589701	-2.84328629
H	0.71037018	2.13938212	2.71364792
H	2.80810606	2.49924065	4.03787059
H	-0.88772870	3.68102627	-0.37792940
H	0.64679853	3.79070196	-0.13980651
N	1.65697991	1.08516473	1.19242208

Tabela 5. Coordenadas cartesianas calculadas para o complexo $\text{Cu}(\text{L}_1)(\text{dpq})^+$ (2).

	x	y	z
Cu	0.02887509	0.09123915	0.01133551
O	1.99806005	0.06433155	0.03472779
N	-0.45376790	2.38348259	-0.14534224
C	-0.43515991	2.79495812	-1.44055065
C	-0.12671784	1.79099140	-2.46107480
N	0.10539729	0.51001468	-2.05165565
C	0.42883942	-0.41731765	-2.96643007
H	0.62771587	-1.42247290	-2.58716609
C	0.51668073	-0.13401626	-4.34036683
H	0.78416236	-0.92701429	-5.04056676
C	0.26164375	1.16061112	-4.77715238
H	0.31462868	1.42980782	-5.83306631
C	-0.06716106	2.15840393	-3.83215611
C	-0.32207209	3.54664805	-4.22059867
N	-0.27501977	3.86875348	-5.53850932
C	-0.53377897	5.13876883	-5.85046301
H	-0.49496541	5.40890005	-6.91034154
C	-0.84454731	6.10707641	-4.86703525
H	-1.05249598	7.14389657	-5.14845912
N	-0.90041573	5.80839660	-3.56912327
C	-0.64529091	4.51787881	-3.23186273
C	-0.66843342	4.14432095	-1.81838003
C	-0.92919344	5.08048313	-0.79135494
H	-1.11334766	6.12208440	-1.05792110
C	-0.93710464	4.65233957	0.53044780
H	-1.12523509	5.34950520	1.34898393

C	-0.69444671	3.29227202	0.80569141
H	-0.68823893	2.92521722	1.83654986
N	-0.05971977	-0.43675221	1.90210169
C	0.97743589	-0.60138190	2.68994978
H	0.78085024	-0.97133236	3.71023950
C	2.35084559	-0.35434820	2.38960253
C	2.81066410	-0.00840386	1.06036114
C	4.23135685	0.22858870	0.87921794
C	5.05454074	0.09509527	1.99627513
H	6.12006347	0.27269192	1.85574153
C	4.62645646	-0.25300546	3.31087631
C	3.27121606	-0.47704800	3.47288286
H	2.86364162	-0.74190333	4.45053360
C	-1.38857962	-0.79411196	2.40705426
H	-1.79175554	0.03258991	3.02531480
H	-1.35170867	-1.68351603	3.06133431
C	-2.35381427	-1.04358093	1.26513950
N	-1.94033157	-0.67882381	0.02700868
C	-2.78405284	-0.85077361	-1.01821799
H	-2.40906725	-0.53994654	-1.99394517
C	-4.06079773	-1.39224365	-0.87716950
H	-4.70138266	-1.51296221	-1.75229743
C	-4.48837665	-1.77655069	0.40115922
H	-5.47879431	-2.21129678	0.55052796
C	-3.62407727	-1.59747605	1.48323673
H	-3.92504736	-1.88676825	2.49262858
C	4.81711214	0.59218215	-0.51098308
C	6.34953113	0.80707680	-0.46594956
H	6.70471702	1.06644932	-1.47434338
H	6.89302898	-0.09901594	-0.15697673
H	6.63860373	1.63349979	0.20148530
C	4.54846790	-0.56085380	-1.51765019
H	4.97249869	-0.30761232	-2.50248609
H	3.47532713	-0.74848100	-1.64276356
H	5.02402679	-1.49451615	-1.17996155
C	4.18531419	1.91495858	-1.02830834
H	4.60723409	2.17067079	-2.01345487
H	4.40739665	2.74767137	-0.34279996
H	3.09668758	1.83211059	-1.13054856
C	5.65683706	-0.35667922	4.45803627
C	4.99648841	-0.74577638	5.80042719
H	5.76433465	-0.80511408	6.58634748
H	4.50549289	-1.73005982	5.75081100
H	4.25332670	-0.00115308	6.12732432
C	6.36348554	1.01336596	4.64810086
H	7.10446016	0.94975198	5.46074090
H	5.63904718	1.80002287	4.90884978
H	6.89730738	1.33600745	3.74207162
C	6.71383316	-1.44029347	4.10860942
H	7.45437650	-1.52742621	4.91954498

H	7.26448389	-1.20291778	3.18664189
H	6.24203301	-2.42555801	3.97418676

Tabela 6. Coordenadas cartesianas calculadas para o complexo Cu(L₁)(phen)⁺ (**3**).

	x	y	z
Cu	-0.00803450	0.05239331	0.01009406
O	1.96097531	0.06340178	0.02148407
N	-0.49425949	2.35209550	-0.18647465
C	-0.45043832	2.72731922	-1.49471829
C	-0.15530082	1.70828470	-2.48616521
N	0.05774012	0.42585327	-2.06350552
C	0.37045847	-0.51188109	-2.96710477
H	0.55208322	-1.51773274	-2.58086571
C	0.47157313	-0.24264682	-4.34698843
H	0.72931314	-1.04835252	-5.03616718
C	0.24194936	1.04931827	-4.79695472
H	0.31161343	1.29033522	-5.86097406
C	-0.07606923	2.07132940	-3.86638065
C	-0.31168117	3.43648446	-4.25454010
C	-0.59468410	4.39785083	-3.32082643
C	-0.66390366	4.07431344	-1.92118329
C	-0.92778742	5.03955021	-0.91500303
H	-1.09624676	6.08229239	-1.19632741
C	-0.96187331	4.64831941	0.41491624
H	-1.15438112	5.36790046	1.21276524
C	-0.73759265	3.28970657	0.73158490
H	-0.75219106	2.95519564	1.77348569
N	-0.07593006	-0.46431388	1.90337225
C	0.96869494	-0.60813102	2.68575023
H	0.78345062	-0.97134400	3.71053689
C	2.33654298	-0.34551517	2.37472630
C	2.78198270	0.00228975	1.04139754
C	4.19803773	0.25700710	0.84890297
C	5.03116645	0.13698811	1.96004501
H	6.09316963	0.32794702	1.81096943
C	4.61755358	-0.21326478	3.27873620
C	3.26668524	-0.45364090	3.45160200
H	2.86967848	-0.72119292	4.43287125
C	-1.39682315	-0.82912920	2.42378738
H	-1.79332296	-0.00931352	3.05527523
H	-1.34820287	-1.72445689	3.06928520
C	-2.37762407	-1.07122673	1.29385425
N	-1.97806350	-0.70604681	0.05130903
C	-2.83624294	-0.86961338	-0.98345793
H	-2.47215100	-0.55722311	-1.96275123
C	-4.11412874	-1.40407764	-0.82720564
H	-4.76694032	-1.51788990	-1.69421547
C	-4.52713465	-1.79005053	0.45543217

H	-5.51796931	-2.21970171	0.61643805
C	-3.64802201	-1.61885216	1.52671341
H	-3.93755552	-1.90899899	2.53921787
C	4.76826114	0.62630350	-0.54631148
C	6.29815173	0.86095657	-0.51346068
H	6.64227305	1.12303213	-1.52499358
H	6.85561403	-0.03748903	-0.20697181
H	6.58158647	1.69228080	0.15027681
C	4.50658670	-0.53101191	-1.54981940
H	4.91997203	-0.27332481	-2.53809549
H	3.43500647	-0.73225907	-1.66657178
H	4.99657149	-1.45824316	-1.21502113
C	4.11550725	1.94027654	-1.05988805
H	4.52646101	2.20049680	-2.04852927
H	4.33231328	2.77647131	-0.37692025
H	3.02737489	1.84365301	-1.15362069
C	5.65822615	-0.30128125	4.41798655
C	5.01341679	-0.69599667	5.76623546
H	5.78800687	-0.74368930	6.54633533
H	4.53478602	-1.68660802	5.72231216
H	4.26321543	0.03969041	6.09723953
C	6.34856062	1.07816478	4.59982032
H	7.09623040	1.02606992	5.40722150
H	5.61600204	1.85610561	4.86399883
H	6.87157613	1.40537412	3.68918036
C	6.72656093	-1.37168299	4.06256412
H	7.47451646	-1.44755378	4.86786765
H	7.26698266	-1.12881392	3.13594936
H	6.26673765	-2.36327279	3.93350361
H	-0.76540568	5.43237330	-3.62882134
H	-0.25295572	3.69535480	-5.31465411

Tabela 7. Coordenadas cartesianas calculadas para o complexo $\text{Cu}(\text{L}_2)(\text{dpq})^+$ (4).

	x	y	z
Cu	4.75955036	11.43180182	7.65873047
O	4.66923144	9.49250056	7.39779634
N	5.62986648	11.36721098	9.83658854
C	6.95668741	11.07108392	9.80916763
C	7.60196351	10.98140689	8.49768173
N	6.84289049	11.22203596	7.39021164
C	7.40752632	11.12150393	6.17746069
H	6.75358178	11.30114267	5.32062059
C	8.76267147	10.79885503	5.99352344
H	9.17047186	10.73024985	4.98361459
C	9.55554673	10.56659967	7.11077430
H	10.61198879	10.31106103	7.01989764
C	8.98120580	10.65617985	8.39867478
C	9.75394799	10.40159056	9.61485480
N	11.07026581	10.09221502	9.49250585
C	11.74140015	9.88808278	10.62596859
H	12.80208514	9.63358186	10.53763780
C	11.12403181	9.99096700	11.89515101
H	11.69654073	9.81781862	12.81168600
N	9.83489200	10.29952391	12.03473368
C	9.13526993	10.51504299	10.89088107
C	7.70921345	10.82466089	10.98844866
C	7.03579730	10.90295372	12.22931480
H	7.59405283	10.71921809	13.14823797
C	5.68034046	11.20571296	12.24729201
H	5.12765452	11.26792410	13.18654988
C	5.01787352	11.42871884	11.02429459
H	3.94880953	11.66055192	11.00600782
N	2.80286244	11.62629775	7.56056544
C	1.94581015	10.64929684	7.37794955
H	0.87909729	10.91677477	7.29427869
C	2.24184037	9.25795756	7.26874959
C	3.59725804	8.74752641	7.28530649
C	3.76710753	7.33427655	7.15618247
C	2.67849997	6.48763158	7.01514245
H	2.85051538	5.41181847	6.91773468
C	1.35250931	6.98740245	6.99476066
C	1.14978098	8.34882946	7.11806372
H	0.13281502	8.75294148	7.10466866
C	2.29545607	13.00054407	7.63556944
H	1.85351211	13.18673879	8.63396762
H	1.49048434	13.17565888	6.90010831
C	3.41204018	14.00160032	7.41913541
N	4.67593453	13.51309986	7.43162135
C	5.71133226	14.37372728	7.28655640
H	6.70880862	13.93248501	7.30970473
C	5.53223116	15.74567804	7.11740860

H	6.39925369	16.39786201	7.00207759
C	4.22581213	16.25339133	7.09425445
H	4.04515842	17.32172029	6.95585872
C	3.15524422	15.37004316	7.24866043
H	2.12487791	15.73296297	7.23641157
H	0.50698620	6.30661645	6.88368477
H	4.78771634	6.94633036	7.16678137

Tabela 8. Coordenadas cartesianas calculadas para o complexo Cu(L₁)(OAC) (**5**).

	x	y	z
Cu	-0.63969856	1.09296216	1.69066786
O	1.26885539	1.24748033	2.11180246
O	-0.31006135	0.80746257	-0.25689703
O	-1.09078407	2.90127989	-0.03513102
N	-1.15864946	1.52054002	3.53043300
C	-0.33465804	1.76535488	4.51907263
C	1.09363845	1.80306776	4.46284702
C	-0.39233466	2.16392007	-2.24169696
C	1.83868509	1.53819073	3.24680088
C	3.29113376	1.59922974	3.32371573
C	3.86597001	1.90706643	4.55324743
C	3.15063773	2.16936319	5.76038434
C	1.77178386	2.10695732	5.68175390
C	-2.60148827	1.53316461	3.76791664
C	-0.63419406	1.97639289	-0.74657120
C	-3.30851829	0.67152963	2.73548654
N	-2.58078580	0.34925857	1.64177030
C	-3.14138030	-0.38562310	0.65732863
C	-4.46120551	-0.83467868	0.72676515
C	-5.22353138	-0.50540184	1.85575159
C	-4.64091146	0.25833322	2.87229261
H	-0.77344653	1.96189184	5.51328132
H	4.95419339	1.95461830	4.60227411
H	1.15294969	2.29557091	6.56217678
H	-2.98524814	2.56806861	3.66704540
H	-2.85961935	1.19473353	4.78786557
H	-2.49197980	-0.59796447	-0.19438003
H	-4.87806965	-1.43078204	-0.08730313
H	-6.25897674	-0.84223639	1.94470734
H	-5.20960767	0.53095634	3.76484847
H	0.67006540	2.40737653	-2.40211228
H	-1.00004604	2.99287676	-2.62554150
H	-0.60571321	1.24231768	-2.80152680
C	4.16059738	1.32752315	2.06887031
C	3.90429673	-0.11285710	1.54150391
C	3.83179945	2.36378556	0.95786903
C	5.67463011	1.44123858	2.36890641
H	4.14878138	-0.86097403	2.31267233
H	2.86055546	-0.25315469	1.23859121

H	4.54464618	-0.30945015	0.66625903
H	4.03222533	3.38926016	1.30768906
H	4.46583158	2.18063890	0.07497119
H	2.78370676	2.30368531	0.64558936
H	6.23884207	1.23757678	1.44606785
H	5.96185482	2.44861849	2.70808415
H	6.00985914	0.71079141	3.12239025
C	3.92199136	2.50247868	7.05802644
C	4.86414753	1.32273886	7.42396521
C	4.76615819	3.78919750	6.84922951
C	2.97448627	2.74192768	8.25551699
H	4.29035270	0.39779471	7.58954213
H	5.60065801	1.12026242	6.63263038
H	5.42335188	1.54710208	8.34688896
H	4.12190553	4.64628473	6.59969386
H	5.32551124	4.03855165	7.76582165
H	5.49886071	3.67444965	6.03666408
H	3.56445381	2.97150329	9.15632113
H	2.29666789	3.59183662	8.08186959
H	2.36422636	1.85329409	8.48235252

Anexo II – dados cristalográficos do complexo 2

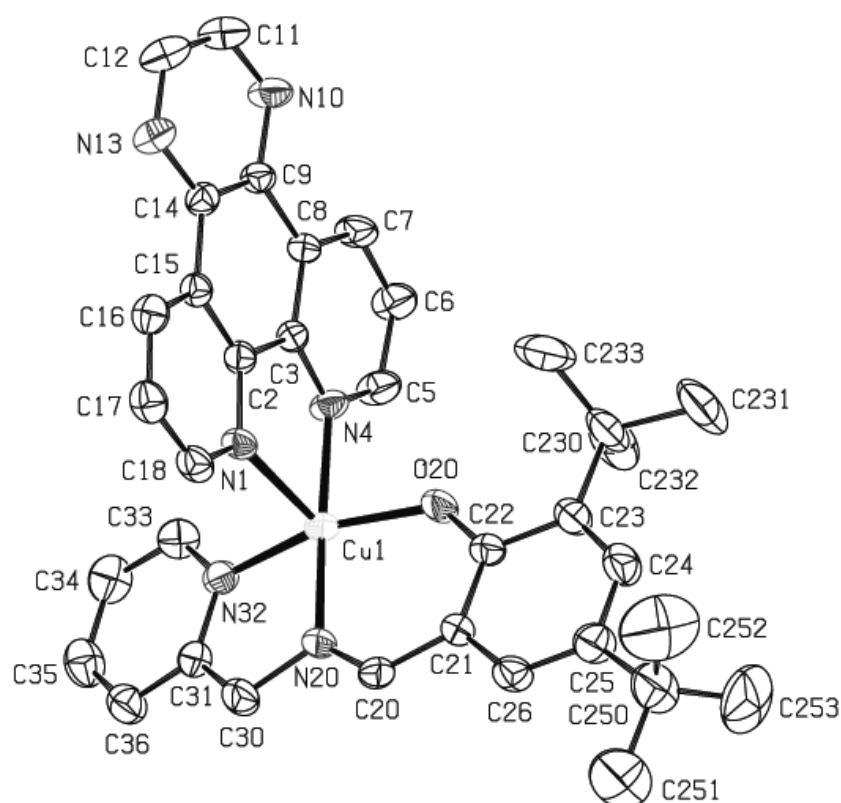


Figura 37. ORTEP do cátion complexo $[\text{Cu}(\text{L}_1)(\text{dpq})]^+$ (2),

Tabela 9. Dados cristalográficos do complexo [Cu(L₁)(dpq)]ClO₄ (**2**).

Fórmula empírica	C35 H35 Cl Cu N6 O5	
Massa molecular	718.68	
Temperatura	293(2) K	
Comprimento de onda	0.71069 Å	
Sistema cristalino	Monoclínico	
Grupo espacial	P 21/n	
Dimensões da célula unitária	a = 11.918(1) Å	α = 90°.
	b = 25.743(4) Å	β = 116.671(8)°.
	c = 12.809(1) Å	γ = 90°.
Volume	3511.7(7) Å ³	
Z	4	
Densidade (calculada)	1.359 Mg/m ³	
Coeficiente de absorção	0.747 mm ⁻¹	
F(000)	1492	
Tamanho do cristal	0.50 x 0.40 x 0.20 mm ³	
Intervalo de θ	1.58 to 25.07°.	
Intervalo dos índices	-12 ≤ h ≤ 14, -30 ≤ k ≤ 0, -15 ≤ l ≤ 0	
Reflexões coletadas	6521	
Reflexões independentes	6231 [R(int) = 0.0523]	
Correção de absorção	Psi-scan	
Transmissão max. e min.	0.865 and 0.699	
Método de refinamento	Full-matrix least-squares on F ²	
Dados / restrições / parâmetros	6231 / 0 / 433	
Goodness-of-fit on F ²	1.028	
Índices R finais [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0548, wR2 = 0.1288	
Índices R (todos os dados)	R1 = 0.1418, wR2 = 0.1575	
Densidade eletrônica residual	1.008 and -0.380 e.Å ⁻³	

Tabela 10. Coordenadas atômicas ($\times 10^4$) e parâmetros de deslocamento isotrópico ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) para $[\text{Cu}(\text{L}_1)(\text{dpq})]\text{ClO}_4$ (**2**) onde $U(\text{eq})$ é definido como um terço do traço do tensor ortogonalizado U^{ij} .

	x	y	z	$U(\text{eq})$
Cu(1)	7221(1)	4436(1)	6570(1)	48(1)
O(20)	6881(3)	3735(1)	6108(3)	64(1)
N(1)	8706(3)	4389(1)	8441(3)	46(1)
C(2)	9846(4)	4300(2)	8483(4)	42(1)
C(3)	9887(4)	4246(2)	7365(4)	40(1)
N(4)	8806(3)	4339(2)	6384(3)	50(1)
C(5)	8808(5)	4284(2)	5348(4)	64(2)
C(6)	9872(5)	4130(2)	5254(5)	69(2)
C(7)	10975(4)	4046(2)	6241(4)	58(1)
C(8)	10995(4)	4102(2)	7327(4)	42(1)
C(9)	12141(4)	4042(2)	8423(4)	46(1)
N(10)	13203(4)	3905(2)	8359(4)	62(1)
C(11)	14215(5)	3881(2)	9370(6)	77(2)
C(12)	14215(5)	3993(2)	10433(5)	79(2)
N(13)	13183(4)	4112(2)	10514(4)	62(1)
C(14)	12119(4)	4134(2)	9488(4)	45(1)
C(15)	10945(4)	4241(2)	9525(4)	42(1)
C(16)	10827(5)	4275(2)	10561(4)	56(1)
C(17)	9678(5)	4369(2)	10532(4)	59(1)
C(18)	8642(5)	4416(2)	9452(4)	54(1)
N(20)	5688(3)	4507(2)	6720(3)	51(1)
C(20)	4983(4)	4130(2)	6729(4)	50(1)
C(21)	5128(4)	3593(2)	6511(4)	48(1)
C(22)	6045(4)	3422(2)	6158(4)	51(1)
C(23)	6035(5)	2889(2)	5853(5)	63(1)
C(24)	5133(5)	2574(2)	5903(5)	73(2)
C(25)	4224(5)	2731(2)	6245(5)	68(2)
C(26)	4246(4)	3236(2)	6548(4)	57(1)
C(30)	5387(5)	5045(2)	6904(5)	68(2)
C(31)	6146(4)	5423(2)	6595(4)	51(1)

N(32)	7097(3)	5221(2)	6436(3)	49(1)
C(33)	7847(5)	5548(2)	6213(4)	63(1)
C(34)	7679(6)	6075(2)	6157(5)	74(2)
C(35)	6697(6)	6278(2)	6311(5)	73(2)
C(36)	5919(5)	5952(2)	6533(4)	65(2)
C(230)	7012(7)	2693(2)	5459(7)	92(2)
C(231)	6827(8)	2107(3)	5145(8)	136(3)
C(232)	6866(7)	2984(3)	4360(7)	117(3)
C(233)	8338(6)	2766(3)	6470(8)	126(3)
C(250)	3305(7)	2330(3)	6305(8)	102(2)
C(251)	2281(8)	2580(3)	6529(9)	155(4)
C(252)	4043(9)	1951(4)	7318(10)	186(5)
C(253)	2701(9)	2028(4)	5199(10)	174(5)
Cl(1)	7490(1)	4571(1)	2162(1)	72(1)
O(1)	7153(4)	4103(2)	2512(4)	109(2)
O(2)	7103(5)	4953(2)	2697(6)	144(2)
O(3)	8819(4)	4616(2)	2626(4)	95(1)
O(4)	6945(5)	4626(3)	957(4)	153(3)

Tabela 11. Comprimentos (Å) e ângulos (°) de ligação selecionados para o complexo [Cu(L₁)(dpq)]ClO₄ (**2**).

Cu(1)-O(20)	1.886(3)
Cu(1)-N(20)	1.930(3)
Cu(1)-N(4)	2.023(3)
Cu(1)-N(32)	2.028(4)
Cu(1)-N(1)	2.254(4)
O(20)-C(22)	1.304(5)
N(1)-C(18)	1.332(5)
N(1)-C(2)	1.356(5)
C(2)-C(15)	1.397(6)
C(2)-C(3)	1.460(6)
C(3)-N(4)	1.357(5)
C(3)-C(8)	1.393(5)

N(4)-C(5)	1.337(6)
C(5)-C(6)	1.384(6)
C(6)-C(7)	1.372(7)
C(7)-C(8)	1.389(6)
C(8)-C(9)	1.463(6)
C(9)-N(10)	1.352(5)
C(9)-C(14)	1.395(6)
N(10)-C(11)	1.316(7)
C(11)-C(12)	1.392(8)
C(12)-N(13)	1.316(6)
N(13)-C(14)	1.358(6)
C(14)-C(15)	1.449(6)
C(15)-C(16)	1.397(6)
C(16)-C(17)	1.376(7)
C(17)-C(18)	1.386(7)
N(20)-C(20)	1.286(6)
N(20)-C(30)	1.475(6)
C(20)-C(21)	1.438(6)
C(21)-C(26)	1.413(6)
C(21)-C(22)	1.426(6)
C(22)-C(23)	1.427(7)
C(23)-C(24)	1.370(7)
C(23)-C(230)	1.547(7)
C(24)-C(25)	1.397(7)
C(25)-C(26)	1.354(7)
C(25)-C(250)	1.533(8)
C(30)-C(31)	1.498(7)
C(31)-N(32)	1.343(6)
C(31)-C(36)	1.383(7)
N(32)-C(33)	1.349(6)
C(33)-C(34)	1.369(7)
C(34)-C(35)	1.373(8)
C(35)-C(36)	1.371(8)
C(230)-C(232)	1.533(9)
C(230)-C(233)	1.540(10)
C(230)-C(231)	1.552(8)
C(250)-C(253)	1.488(11)
C(250)-C(251)	1.516(9)

C(250)-C(252)	1.543(11)
Cl(1)-O(4)	1.386(5)
Cl(1)-O(2)	1.391(5)
Cl(1)-O(1)	1.407(4)
Cl(1)-O(3)	1.425(4)

O(20)-Cu(1)-N(20)	92.43(15)
O(20)-Cu(1)-N(4)	85.69(15)
N(20)-Cu(1)-N(4)	178.07(16)
O(20)-Cu(1)-N(32)	158.41(16)
N(20)-Cu(1)-N(32)	82.95(16)
N(4)-Cu(1)-N(32)	98.65(16)
O(20)-Cu(1)-N(1)	103.75(15)
N(20)-Cu(1)-N(1)	103.04(15)
N(4)-Cu(1)-N(1)	77.86(13)
N(32)-Cu(1)-N(1)	97.83(14)
C(22)-O(20)-Cu(1)	129.5(3)
C(18)-N(1)-C(2)	117.7(4)
C(18)-N(1)-Cu(1)	132.1(3)
C(2)-N(1)-Cu(1)	110.2(3)
N(1)-C(2)-C(15)	123.3(4)
N(1)-C(2)-C(3)	116.8(4)
C(15)-C(2)-C(3)	119.8(4)
N(4)-C(3)-C(8)	122.3(4)
N(4)-C(3)-C(2)	117.1(4)
C(8)-C(3)-C(2)	120.6(4)
C(5)-N(4)-C(3)	118.5(4)
C(5)-N(4)-Cu(1)	123.3(3)
C(3)-N(4)-Cu(1)	117.5(3)
N(4)-C(5)-C(6)	121.8(5)
C(7)-C(6)-C(5)	120.1(5)
C(6)-C(7)-C(8)	119.0(4)
C(7)-C(8)-C(3)	118.3(4)
C(7)-C(8)-C(9)	122.6(4)
C(3)-C(8)-C(9)	119.0(4)
N(10)-C(9)-C(14)	122.1(4)
N(10)-C(9)-C(8)	117.7(4)
C(14)-C(9)-C(8)	120.1(4)

C(11)-N(10)-C(9)	115.0(4)
N(10)-C(11)-C(12)	123.4(5)
N(13)-C(12)-C(11)	122.4(5)
C(12)-N(13)-C(14)	115.6(5)
N(13)-C(14)-C(9)	121.4(4)
N(13)-C(14)-C(15)	118.2(4)
C(9)-C(14)-C(15)	120.4(4)
C(2)-C(15)-C(16)	116.8(4)
C(2)-C(15)-C(14)	119.6(4)
C(16)-C(15)-C(14)	123.6(4)
C(17)-C(16)-C(15)	120.6(5)
C(16)-C(17)-C(18)	118.2(4)
N(1)-C(18)-C(17)	123.5(4)
C(20)-N(20)-C(30)	120.0(4)
C(20)-N(20)-Cu(1)	125.5(3)
C(30)-N(20)-Cu(1)	114.5(3)
N(20)-C(20)-C(21)	126.0(4)
C(26)-C(21)-C(22)	119.9(4)
C(26)-C(21)-C(20)	117.6(4)
C(22)-C(21)-C(20)	122.3(4)
O(20)-C(22)-C(21)	122.4(4)
O(20)-C(22)-C(23)	119.6(4)
C(21)-C(22)-C(23)	118.0(4)
C(24)-C(23)-C(22)	117.8(5)
C(24)-C(23)-C(230)	123.1(5)
C(22)-C(23)-C(230)	119.1(5)
C(23)-C(24)-C(25)	125.4(5)
C(26)-C(25)-C(24)	116.7(5)
C(26)-C(25)-C(250)	123.6(5)
C(24)-C(25)-C(250)	119.6(5)
C(25)-C(26)-C(21)	122.2(4)
N(20)-C(30)-C(31)	110.4(4)
N(32)-C(31)-C(36)	121.9(5)
N(32)-C(31)-C(30)	116.0(4)
C(36)-C(31)-C(30)	122.0(5)
C(31)-N(32)-C(33)	118.4(4)
C(31)-N(32)-Cu(1)	114.1(3)
C(33)-N(32)-Cu(1)	127.6(3)

N(32)-C(33)-C(34)	122.3(5)
C(33)-C(34)-C(35)	118.9(5)
C(36)-C(35)-C(34)	119.7(6)
C(35)-C(36)-C(31)	118.8(5)
C(232)-C(230)-C(233)	111.3(6)
C(232)-C(230)-C(23)	110.4(5)
C(233)-C(230)-C(23)	109.0(6)
C(232)-C(230)-C(231)	107.0(6)
C(233)-C(230)-C(231)	108.0(6)
C(23)-C(230)-C(231)	111.1(5)
C(253)-C(250)-C(251)	108.4(7)
C(253)-C(250)-C(25)	110.8(6)
C(251)-C(250)-C(25)	112.2(5)
C(253)-C(250)-C(252)	108.7(7)
C(251)-C(250)-C(252)	108.2(7)
C(25)-C(250)-C(252)	108.5(6)
O(4)-Cl(1)-O(2)	112.5(4)
O(4)-Cl(1)-O(1)	112.6(3)
O(2)-Cl(1)-O(1)	104.1(3)
O(4)-Cl(1)-O(3)	109.5(3)
O(2)-Cl(1)-O(3)	106.8(3)
O(1)-Cl(1)-O(3)	111.1(3)

Tabela 12. Parâmetros de deslocamento anisotrópico ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) para o complexo $[\text{Cu}(\text{L}_1)(\text{dpq})]\text{ClO}_4$ (**2**). O fator de deslocamento anisotrópico é calculado da seguinte maneira: $-2 \pi^2 [h^2 a^{*2} U_{11} + \dots + 2 h k a^* b^* U_{12}]$.

	U ₁₁	U ₂₂	U ₃₃	U ₂₃	U ₁₃	U ₁₂
Cu(1)	34(1)	56(1)	60(1)	-10(1)	25(1)	-1(1)
O(20)	51(2)	57(2)	102(3)	-21(2)	50(2)	-4(2)
N(1)	43(2)	51(2)	53(2)	-3(2)	30(2)	3(2)
C(2)	43(3)	43(3)	46(3)	-5(2)	25(2)	-4(2)
C(3)	38(2)	39(2)	46(3)	-3(2)	21(2)	-2(2)
N(4)	33(2)	77(3)	42(2)	-6(2)	19(2)	-2(2)
C(5)	43(3)	104(5)	45(3)	-6(3)	18(2)	4(3)
C(6)	52(3)	114(5)	48(3)	-13(3)	28(3)	3(3)
C(7)	46(3)	83(4)	57(3)	-4(3)	34(3)	8(3)
C(8)	36(2)	45(3)	48(3)	-3(2)	22(2)	2(2)
C(9)	37(2)	43(3)	60(3)	0(2)	24(2)	0(2)
N(10)	38(2)	84(3)	67(3)	2(2)	27(2)	8(2)
C(11)	44(3)	99(5)	89(5)	9(4)	29(3)	13(3)
C(12)	39(3)	105(5)	76(4)	11(4)	12(3)	1(3)
N(13)	42(2)	78(3)	56(3)	3(2)	15(2)	-2(2)
C(14)	42(3)	44(3)	47(3)	1(2)	19(2)	-3(2)
C(15)	45(3)	42(3)	42(3)	-2(2)	23(2)	-2(2)
C(16)	60(3)	58(3)	46(3)	1(2)	21(3)	-2(3)
C(17)	74(3)	63(4)	52(3)	-5(3)	40(3)	-3(3)
C(18)	59(3)	55(3)	63(3)	-6(3)	41(3)	0(3)
N(20)	39(2)	54(3)	69(3)	-14(2)	31(2)	0(2)
C(20)	38(3)	59(3)	58(3)	-7(3)	26(2)	-3(2)
C(21)	43(3)	47(3)	54(3)	-6(2)	23(2)	3(2)
C(22)	43(3)	50(3)	65(3)	-5(3)	28(2)	1(2)
C(23)	61(3)	49(3)	88(4)	-8(3)	41(3)	3(3)
C(24)	77(4)	45(3)	105(5)	-9(3)	48(4)	-3(3)
C(25)	64(3)	57(4)	92(4)	4(3)	44(3)	-5(3)
C(26)	55(3)	59(3)	73(4)	0(3)	42(3)	0(3)
C(30)	60(3)	61(4)	99(4)	-22(3)	51(3)	-6(3)
C(31)	48(3)	54(3)	48(3)	-7(2)	18(2)	-1(2)
N(32)	43(2)	53(2)	49(2)	-1(2)	19(2)	-1(2)

C(33)	62(3)	65(4)	63(3)	5(3)	30(3)	1(3)
C(34)	86(4)	67(4)	71(4)	9(3)	36(3)	-9(3)
C(35)	97(4)	52(4)	67(4)	6(3)	33(3)	5(3)
C(36)	69(4)	63(4)	57(3)	-2(3)	22(3)	15(3)
C(230)	96(5)	52(4)	158(7)	-24(4)	85(5)	5(3)
C(231)	158(7)	59(4)	252(11)	-37(5)	147(8)	-1(5)
C(232)	153(7)	103(6)	159(8)	-35(5)	125(7)	-6(5)
C(233)	78(5)	104(6)	208(9)	5(6)	74(6)	32(4)
C(250)	107(5)	60(4)	170(8)	-7(5)	91(6)	-19(4)
C(251)	146(8)	107(6)	289(13)	-17(7)	165(9)	-42(6)
C(252)	163(9)	125(8)	272(13)	97(9)	100(9)	-12(7)
C(253)	147(8)	161(9)	251(12)	-81(9)	122(9)	-98(7)
Cl(1)	60(1)	85(1)	82(1)	15(1)	41(1)	4(1)
O(1)	96(3)	94(3)	103(3)	27(3)	16(3)	-28(3)
O(2)	149(5)	107(4)	256(7)	-1(4)	162(5)	15(3)
O(3)	60(2)	132(4)	104(3)	-13(3)	46(2)	-12(2)
O(4)	100(4)	271(8)	73(3)	48(4)	25(3)	-23(4)

Anexo III – artigo aceito para publicação